

**Musteranalysen an ausgewählten  
variegaten Formen der *Araceae*,  
*Asteraceae*, *Ericaceae*, *Marantaceae* und  
*Rosaceae***

**DISSERTATION**

zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor rerum horticumarum  
(Dr. rer. hort.)

eingereicht an der  
Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät  
der Humboldt-Universität zu Berlin

von  
Dipl. Ing. agr. David Rodriguez I.  
geboren am 16.09.1968, San Jose (Costa Rica)

Präsident  
der Humboldt-Universität zu Berlin  
Prof. Dr. Jürgen Mlyněk

Dekan  
der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät:  
Prof. Dr. Dr. h.c. E. Lindemann

Gutachter: 1. Prof. Dr. F. Pohlheim

2. Prof. Dr. Klopfer

Tag der mündlichen Prüfung: 06.07.2001

## Inhaltverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Variegationen und Chimärentheorie	1
1.2	Mischzellen und Entstehung variegater Pflanzen	2
1.3	Extranucleäre Vererbung	3
1.4	Hypoderm und Beeinflussung der Musterbildung	6
1.4.1	Maskiertes und unmaskiertes Binnenfeld bei Periklinalchimären	6
1.5	Beteiligung der ersten Sprossscheitelschicht (L1) an der Bildung von Epidermis und Mesophyll des Laubblattes	7
1.6	Partnerinduktion	10
1.7	Problemstellung	12
2	Material und Methoden	15
2.1	Pflanzenmaterial	15
2.1.1	<i>Araceae</i>	15
2.1.1.1	<i>Monstera deliciosa</i> LIEBM. 'Variegata'	15
2.1.1.2	<i>Syngonium podophyllum</i> SCHOTT 'Variegata'	16
2.1.2	<i>Asteraceae</i>	16
2.1.2.1	<i>Dendranthema grandiflorum</i> (RAMAT.) KITAM. 'Pirol'	16
2.1.2.2	<i>Dendranthema grandiflorum</i> (RAMAT.) KITAM. 'Luyona'	17
2.1.3	<i>Ericaceae</i>	18
2.1.3.1	<i>Rhododendron-Hybride</i> 'Goldflimmer'	18
2.1.3.2	<i>Rhododendron simsii</i> PLANCH. 'Andenken an Vater Hedusch'	18
2.1.4	<i>Marantaceae</i>	19
2.1.4.1	<i>Ctenanthe lubbersiana</i> (E. MORR.) EICHEL: ex O.G. PETERS 'Variegata'	19
2.1.4.2	<i>Ctenanthe oppenheimiana</i> (E. MORR.) K. SCHUM. 'Tricolor'	20
2.1.5	<i>Rosaceae</i>	21
2.1.5.1	<i>Spiraea bumalda</i> BURV. 'Goldflame'	21
2.1.5.2	<i>Spiraea bumalda</i> BURV. 'Shirobana'	22
2.2	Methoden	22
2.2.1	Entmischung	22
2.2.1.1	Entmischung durch BATESON-Test (BATESON, 1916)	22
2.2.1.2	Entmischung nach Selbstungen	23
2.2.1.3	Spontane Entmischung	24
2.2.1.4	Entmischung nach In-vitro-Kultur	24
2.2.2	Doppelte Markierung	29

2.2.3	Herstellung von Frischpräparaten	31
2.2.4	Herstellung von Dauerpräparaten	31
2.2.5	Lichtmikroskopische Betrachtung und Dokumentation	32
3	Ergebnisse	33
3.1	Blattmuster mit unregelmäßiger makulater Musterung	33
3.1.1	<i>Araceae</i>	33
3.1.1.1	Mikroskopische Untersuchungen an <i>Syngonium podophyllum</i> ‘Variegata’	33
3.1.1.1.1	Mischzellennachweise bei <i>Syngonium podophyllum</i> ‘Variegata’	33
3.1.1.2	Spontane Entmischung bei <i>Syngonium podophyllum</i> ‘Variegata’	34
3.1.1.2.1	Beteiligung der Epidermis bei der Mesophyllbildung	37
3.1.1.2.2	Stabilität nach Plastidenentmischung	37
3.1.1.3	In-vitro-Kultur von <i>Syngonium podophyllum</i> ‘Variegata’	38
3.1.1.4	Mikroskopische Untersuchungen an <i>Monstera deliciosa</i> ‘Variegata’	41
3.1.1.4.1	Mischzellennachweise bei <i>Monstera deliciosa</i> ‘Variegata’	41
3.1.1.5	Spontane Entmischung bei <i>Monstera deliciosa</i> ‘Variegata’	42
3.1.1.6	Untersuchungen von Sprossscheiteln und Achselknospen an <i>Syngonium podophyllum</i> und <i>Monstera deliciosa</i>	43
3.1.2	<i>Asteraceae</i>	45
3.1.2.1	Mikroskopische Untersuchungen an <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Pirol’	45
3.1.2.1.1	Mischzellennachweise bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Pirol’	45
3.1.2.2	Anordnung der Zelltypen in genetisch heterogenen Trieben	46
3.1.2.2.1	Selbstungen bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Pirol’	46
3.1.2.2.2	Konkurrenz während des Wachstums der Sämlinge	49
3.1.2.3	In-vitro-Entmischung von <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Pirol’	50
3.1.2.3.1	Ursprung von Adventivsprossen	50
3.1.2.3.2	Zusammenhang Sprossursprung und Mutterpflanzentyp	52
3.1.2.3.3	Konkurrenz bei der Ausbildung von Sprossen	53
3.1.2.4	Mikroskopische Untersuchungen und Selbstungen an <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Luyona’	54
3.1.2.4.1	Mischzellennachweis bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Luyona’	54
3.1.2.5	Sprossscheiteluntersuchungen an den Sorten ‘Pirol’ und ‘Luyona’ von <i>Dendranthema grandiflorum</i>	56
3.2	Untersuchungen zur Problematik ‘Immerspaltende Periklinalchimären’	58
3.2.1	<i>Spiraea bumalda</i> ‘Goldflame’	58

3.2.1.1	Mikroskopische Untersuchungen an <i>Spiraea bumalda</i> ‘Goldflame’	58
3.2.1.2	Musteranalyse	59
3.2.1.3	Wurzelaustriebe bei <i>Spiraea bumalda</i> ‘Goldflame’	60
3.2.1.4	In-vitro-Kultur von <i>Spiraea bumalda</i> ‘Goldflame’	61
3.2.1.4.1	Kallus-Kultur	61
3.2.1.4.2	Sprossbildung	62
3.2.1.4.3	Abstammung der Adventivsprosse	65
3.2.1.5	Sprossscheiteluntersuchungen an <i>Spiraea bumalda</i> ‘Goldflame’	65
3.2.1.6	<i>Spiraea bumalda</i> ‘Shirobana’	66
3.2.1.6.1	Blattanatomie	66
3.2.1.6.2	Mikroskopische Untersuchungen des Blütenblattes	67
3.2.1.6.3	Wurzelaustriebe bei <i>Spiraea bumalda</i> ‘Shirobana’	68
3.2.1.6.4	In-vitro-Kultur von <i>Spiraea bumalda</i> ‘Shirobana’	70
3.2.1.6.5	Untersuchungen des Sprossscheitels an <i>Spiraea bumalda</i> ‘Shirobana’	75
3.3	Hypoderm und Beeinflussung der Musterbildung	76
3.3.1	Mikroskopische Untersuchungen an <i>Ctenanthe lubbersiana</i> ‘Variegata’	76
3.3.2	Mikroskopische Untersuchungen an <i>Ctenanthe oppenheimiana</i>	78
3.3.2.1	Aufbau des Blattes von <i>Ctenanthe oppenheimiana</i>	78
3.3.2.2	Anatomische Struktur eines chlorophylldefekten Blattes von <i>Ctenanthe oppenheimiana</i> ‘Tricolor’.	80
3.3.3	Mikroskopische Untersuchungen an der <i>Rhododendron</i> -Hybride ‘Goldflimmer’	81
3.3.4	<i>Rhododendron simsii</i> ‘Andenken an Vater Hedusch’	83
3.3.5	Untersuchungen von Sprossscheiteln	85
4	Diskussion	87
4.1	Diskussion zur Problematik Blattmuster mit unregelmäßiger makulater Musterung	87
4.1.1	Ursprung und Entwicklung von Mosaiken	87
4.1.2	Sprossscheitelstruktur und Muster	90
4.1.3	Sprossscheitelentwicklung und Mustertypen	92
4.1.4	Histogenese nach spontaner Entmischung	95
4.1.5	L1 und Bildung des Mesophylls	97
4.2	Diskussion zur Problematik ‘Immerspaltende Periklinalchimären’	97
4.2.1	<i>Spiraea bumalda</i> ‘Goldflame’	97
4.2.1.1	In-vitro-Kultur und somaklonale Variabilität bei <i>Spiraea bumalda</i> ‘Goldflame’	98



4.2.1.2	Von L1 abstammendes Mesophyll	100
4.2.2	<i>Spiraea bumalda</i> ‘Shirobana’	100
4.3	Diskussion zur Problematik Hypoderm und Beeinflussung der Musterbildung	102
4.3.1	<i>Ctenanthe lubbersiana</i> ‘Variegata’	102
4.3.2	<i>Ctenanthe oppenheimiana</i> ‘Tricolor ’	103
4.3.3	<i>Rhododendron-Hybride</i> ‘Goldflimmer’	105
4.3.4	<i>Rhododendron simsii</i> ‘Andenken an Vater Hedusch’	105
5	Zusammenfassung	107
6	Literaturverzeichnis	109

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste der Pflanzen mit zufälliger Beteiligung der L1 an der Mesophyllbildung nach BIELE, 1992.	9
Tabelle 2: Konzentrationen und Phytohormonkombinationen für den Kallusinduktionsversuch an Blättern von <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana'. 1998.	25
Tabelle 3: Konzentrationen und Kombinationen von 2,4-D und BAP für den Kallusinduktionsversuch an Blättern von <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana' und 'Goldflame'. 1998-1999.	26
Tabelle 4: Konzentrationen und Kombinationen der Zytokinine (BAP bzw. TDZ) und Auxine (IES bzw. NAA) zur Adventivsprossinduktion aus Kallus von <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana' und 'Goldflame'. 1998.	26
Tabelle 5: Konzentrationen und Kombinationen von NAA und TDZ zur Sprossinduktion aus Kallus von <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana' und 'Goldflame'. 1999 - 2000.	27
Tabelle 6: Konzentration und Kombination von NAA und AgNO <sub>3</sub> zur Adventivsprossinduktion aus Internodien von <i>Dendranthema grandiflorum</i> . 1999.	28
Tabelle 7: Konzentrationen und Kombinationen von NAA bzw. 2,4-D und Kinetin für den Kallusinduktionsversuch an Blättern von <i>Syngonium podophyllum</i> 'Variegata' 1998-1999.	29
Tabelle 8: Konzentrationen und Kombinationen von TDZ und AgNO <sub>3</sub> mit 0,3 mg/l NAA für den Adventivsprossinduktionsversuch an Internodien von <i>Syngonium podophyllum</i> 'Variegata' 1999-2000.	29
Tabelle 9: Einbettungsverfahren zur Herstellung von Dauerpräparaten	32
Tabelle 10: Ergebnisse der Vermehrung der Klone von <i>Syngonium podophyllum</i> 'Variegata'	35
Tabelle 11: Entwicklung des Blattmusters während des Pflanzenwachstums von <i>Syngonium podophyllum</i> 'Variegata'.	35
Tabelle 12: Ergebnisübersicht der Überprüfung der Stabilität von <i>Syngonium podophyllum</i> mit einheitlich grünen Blättern.	38
Tabelle 13: Ergebnisse der Sprossinduktion bei <i>Syngonium podophyllum</i> 'Variegata'	39
Tabelle 14: Vergleich der Musterung von Explantat und Regenerat nach Sprossinduktion bei <i>Syngonium podophyllum</i> 'Variegata'	40
Tabelle 15: Ergebnisse der Entwicklung variegater Klonen von <i>Monstera deliciosa</i>	42
Tabelle 16: Entwicklung des Blattmusters während des Wachstums der Pflanzen von <i>Monstera deliciosa</i>	43
Tabelle 17: Scheiteluntersuchungen zum Nachweis der Anzahl der Scheitelschichten bei <i>Syngonium podophyllum</i> und <i>Monstera deliciosa</i>	43
Tabelle 18: Ergebnisse der Selbstungen von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'	47
Tabelle 19: Übersicht der Musterungen von Sämlingen aus Selbstungen an makulaten Pflanzen von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'.	47
Tabelle 20: Variegationsvergleich von Mutter- und Nachkommenschaftspflanzen von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'	48

Tabelle 21: Ergebnisse der Selbstungen variegater, weißer und grüner Triebe von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'.	49
Tabelle 22: Entwicklung des Blattmusters während des Pflanzenwachstums der Sämlinge von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'	50
Tabelle 23: Ergebnisse der Adventivsprossinduktion bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'	51
Tabelle 24: Charakterisierung des Phänotypes der Laubblätter von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol' nach Adventivsprossinduktion aus Internodienstücken mit 50% Variegation	51
Tabelle 25: Vergleich der Musterung von Explantat und Regenerat nach Adventivsprossinduktion bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'	52
Tabelle 26: Übersicht der Musterungen von Sämlingen aus Selbstungen an makulaten Pflanzen von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Luyona'	55
Tabelle 27: Sprossscheiteluntersuchungen zum Nachweis unabhängiger Scheitelschichten bei den Sorten 'Pirol' und 'Luyona' von <i>Dendranthema grandiflorum</i>	57
Tabelle 28: Charakterisierung des Phänotypes der Laubblätter von <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame' nach Austriebinduktion aus Wurzeln.	61
Tabelle 29: Ergebnisse der Kallusinduktion bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame'	62
Tabelle 30: Übersicht der Ergebnisse der Adventivsprossinduktion aus Kalli von <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame' bei verschiedenen Phytohormonkonzentrationen und -kombinationen	63
Tabelle 31: Charakterisierung des Phänotypes der Laubblätter von <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame' und ihrer Regenerate nach der Entmischung durch In-vitro-Kultur.	64
Tabelle 32: Sprossscheiteluntersuchungen zum Vorliegen perikliner Teilungen in den Scheitelschichten bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame'	66
Tabelle 33: Ergebnisse der Blütenbonituren an 'Shirobana'-Pflanzen von Wurzel-austrieben. 2000.	69
Tabelle 34: Ergebnisse der ersten Kallusinduktion bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana'	71
Tabelle 35: Ergebnisse der zweiten Kallusinduktion bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana'	72
Tabelle 36: Regeneration von Adventivsprossen aus Kalli bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana'	73
Tabelle 37: Ergebnisse der Blütenbonituren von 'Shirobana'-Pflanzen nach In-vitro-Kultur und den Kontrollpflanzen. 2000.	75
Tabelle 38: Sprossscheiteluntersuchungen zum Vorliegen perikliner Teilungen in den Scheitelschichten bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana'	75
Tabelle 39: Sprossscheiteluntersuchungen	85

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: <i>Monstera deliciosa</i> ‘Variegata’	15
Abbildung 2: <i>Syngonium podophyllum</i> ‘Variegata’	16
Abbildung 3: <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Pirol’	17
Abbildung 4: <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Luyona’	17
Abbildung 5: Die <i>Rhododendron</i> -Hybride ‘Goldflimmer’	18
Abbildung 6: <i>Rhododendron simsii</i> ‘Andenken an Vater Hedusch’	19
Abbildung 7: <i>Ctenanthe lubbersiana</i> ‘Variegata’.	20
Abbildung 8: <i>Ctenanthe oppenheimiana</i> ‘Tricolor’	21
Abbildung 9: <i>Spiraea bumalda</i> ‘Goldflame’	21
Abbildung 10: <i>Spiraea bumalda</i> ‘Shirobana’	22
Abbildung 11: Querschnitt durch ein Blatt von <i>Syngonium podophyllum</i> . Im Mesophyll befinden sich Zellen mit grünen oder mutierten Plastiden.	33
Abbildung 12: Mischzellen im Gewebe von variegatem <i>Syngonium podophyllum</i> . links: In den Zellen des Schwammparenchyms befinden sich mutierte und unmutierte Plastiden, rechts: Die Zelle des Palisadenparenchyms enthält zerfallene mutierte Plastiden und eine unmutierte Plastide.	34
Abbildung 13: <i>Syngonium podophyllum</i> , oben: Epidermisabzug. Schließzellen enthalten normale, grüne Plastiden. unten: Querschnitt durch Blätter, links: homohistisch grüne Pflanze, rechts: Chimäre der Konstitution GW.	36
Abbildung 14: <i>Syngonium podophyllum</i> : Querschnitt durch einen grünen Randbereich	37
Abbildung 15: <i>Syngonium podophyllum</i> : links: Kallusinduktion, rechts: Adventivprossinduktion.	39
Abbildung 16: Adventivprosse nach Internodienkultur bei <i>Syngonium podophyllum</i> . links: weißer, entwickelter Adventivpross aus einem Explantat mit 50 % Variegation, rechts: grüner, entwickelter Adventivpross aus einem Explantat mit 50 % Variegation.	40
Abbildung 17: Querschnitt durch ein Blatt von <i>Monstera deliciosa</i> . Im Mesophyll befinden sich Zellen mit grünen oder mutierten Plastiden	41
Abbildung 18: Mischzellen im Gewebe von variegaten <i>Monstera deliciosa</i> : In den Zellen des Schwammparenchyms befinden sich mutierte und unmutierte Plastiden	42
Abbildung 19: Längsschnitt durch Sprossscheitel von <i>Syngonium podophyllum</i> (links) und eine Achselknospe von <i>Monstera deliciosa</i> (rechts). Kunststoff-Dauerpräparate, Hämatoxylin-Färbung nach Delafield.	44
Abbildung 20: Querschnitt durch ein Blatt von <i>Dendranthema grandiflorum</i> ‘Pirol’. Im Mesophyll befinden sich Zellen mit grünen und mutierten Plastiden.	45

Abbildung 21: Mischzellen bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'. Große, unmutierte Chloroplasten und kleinere, mutierte Chloroplasten sind im Mesophyll zu erkennen.	46
Abbildung 22: Sämlinge nach Selbstungen von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'. links: eine Albinopflanze, die nur die Keimblätter ausbildet, rechts: panaschierte und grüne Sämlinge.	47
Abbildung 23: Variegater Adventivspross nach Internodienkultur bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol' auf MS Medium mit 0,2 mg/l NAA, 0,5 mg/l BAP und 1,7 mg/l AgNO <sub>3</sub> .	52
Abbildung 24: Adventivspross nach Internodienkultur bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'. links: weißer entwickelter Adventivspross und grüne Adventivsprossprimordia aus einem Explantat mit 50 % Variegation	53
Abbildung 25: Konkurrenz bei der Ausbildung von Sprossen bei <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Pirol'. Die Pfeile markieren die Sprosse, die sich zu grün entmischten.	54
Abbildung 26: Beide Abbildungen zeigen Mischzellen von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Luyona'.	55
Abbildung 27: Sämlinge nach Selbstungen von <i>Dendranthema grandiflorum</i> 'Luyona'. links: Der Pfeil markiert eine Albinopflanze, die nur die Keimblätter ausbildete und abstirbt, rechts: grüne Sämlinge.	56
Abbildung 28: Längsschnitte durch Sprossspitze von <i>Dendranthema grandiflorum</i> . links: 'Pirol', rechts: 'Luyona'. Beide Sorten enthalten nur zwei Schichten im Sprossspitze.	57
Abbildung 29: Querschnitt durch ein Blatt von <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame': Die Abbildung zeigt einen Übergang vom Aurea- zum grünen Mesophyll.	58
Abbildung 30: <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame'. Die Scheckungsmuster von Blatt 0, 5 und 10 eines Achselsprosses: Diese Blätter liegen übereinander im Bereich eines schmalen, grünen Sektors.	59
Abbildung 31: Wurzeltriebe bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame'.	60
Abbildung 32: Adventivsprossinduktion aus Kallus bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame' auf MS Nährmedium. links: 0,1 mg/l NAA und 1 mg/l TDZ, rechts: 0,3 mg/l NAA und 3 mg/l TDZ.	64
Abbildung 33: Histologische Untersuchungen an Laubblättern von <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame'. von links nach rechts: 0, 6 und 12 Tage nach Kallusinduktion auf MS Medium mit 0,5 mg/l BAP und 5 mg/l 2,4-D. Es wird deutlich, dass der Kallus von Mesophyllzellen abstammt.	65
Abbildung 34: Längsschnitte durch Sprossspitze von <i>Spiraea bumalda</i> 'Goldflame' im Kunststoff-Dauerpräparat, Färbung mit Hämatoxylin nach Delafield; Die Pfeile markieren die Stellen, wo perikline Teilungen stattfinden, links: perikline Teilungen in der L1, rechts: perikline Teilungen nur in L2.	66

Abbildung 35: links: Blüte völlig rot, rosa bzw. weiß bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana' rechts: Entsprechende Blütenblattquerschnitte. Die Blüten, die eine rote Blütenfarbe haben, zeigten, dass Blütenfarbstoff bei 'Shirobana' nur in beiden Epidermen gebildet werden kann	68
Abbildung 36: Wurzelaustriebe bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana'	69
Abbildung 37: Kallusinduktion bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana' auf MS Nährmedium. links: 1 mg/l 2,4-D und 2 mg/l BAP, rechts: 5 mg/l 2,4-D und 1 mg/l BAP.	72
Abbildung 38: Adventivsprossinduktion aus Kallus bei <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana' auf MS Nährmedium mit 1 mg/l TDZ.	74
Abbildung 39: Längsschnitte durch einen Sprossscheitel von <i>Spiraea bumalda</i> 'Shirobana' im Kunststoff-Dauerpräparat, Färbung mit Hämatoxylin nach Delafield.	76
Abbildung 40: Epidermisabzug von <i>Ctenanthe lubbersiana</i> 'Variegata', Die Schließ- und Nebenzellen besitzen grüne Plastiden.	77
Abbildung 41: Querschnitt durch ein Blatt von <i>Ctenanthe lubbersiana</i> 'Variegata', Im gesamten Blatt sowohl an Blattober- als auch Blattunterseite ist ein Hypoderm.	77
Abbildung 42: Blattquerschnitte durch das Binnenfeld von <i>Ctenanthe lubbersiana</i> 'Variegata', links: bei jüngeren Blättern ist das Binnenfeld hellgrün; rechts: bei älteren Blättern ist das Binnenfeld weiß.	78
Abbildung 43: Blattquerschnitte von <i>Ctenanthe oppenheimiana</i> im Kunststoff-Dauerpräparat, Färbung mit Toluidinblau; links: Der Schnitt durch den graugrünen Sektor zeigt Lufträume zwischen den Palisadenparenchymzellen, rechts: Schnitt durch einen grünen Bereich mit sehr kleinen Interzellularräume im Palisadenbereich.	79
Abbildung 44: Abzug der unteren Epidermis von <i>Ctenanthe oppenheimiana</i> 'Tricolor': Die Schließ- und Nebenzellen enthalten grüne Plastiden.	80
Abbildung 45: Querschnitt durch den weißen Blattrand von <i>Ctenanthe oppenheimiana</i> 'Tricolor', grüne Zellen befinden sich subhypodermal im weißen Randmesophyll. Ein Hypoderm ist blattober- und blattunterseits ausgebildet.	81
Abbildung 46: Blattquerschnitte von <i>Ctenanthe oppenheimiana</i> 'Tricolor', links: Übergang vom grünen Binnenfeld zum weißen Blattrand, rechts: Schnitt durch das grüne Binnenfeld.	81
Abbildung 47: Blattquerschnitt der <i>Rhododendron</i> -Hybride 'Goldflimmer', links: Im Bereich der Blattoberseite eines unmaskierten Binnenfeldes ist ein Hypoderm ausgebildet; rechts: Im Bereich der Blattunterseite ist die grüne Färbung von L2-bürtigem Gewebe ablesbar.	82
Abbildung 48: <i>Rhododendron</i> -Hybride 'Goldflimmer', links: Schließzellen mit Chloroplasten, rechts: Der Blattquerschnitt durch den Blattrand zeigt das grüne L2-bürtige Mesophyll.	82
Abbildung 49: Querschnitt durch ein Blatt eines homohistisch grünen Triebes der <i>Rhododendron</i> -Hybride 'Goldflimmer', links: Blattquerschnitt im Bereich einer Blattmitte; rechts: Blattquerschnitt am Blattrand. Das gesamte Mesophyll im Blatt enthält grüne Plastiden und ein Hypoderm ist nur an der Blattoberseite zu erkennen.	83

- Abbildung 50: *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’ links: Schließzellen mit Chloroplasten; rechts: Querschnitt durch das grüne Binnenfeld, eine weiße Mesophyllschicht ist blattober- und blattunterseits ausgebildet. 84
- Abbildung 51: *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’, links: Blattquerschnitt im Bereich eines Überganges vom graugrünen Sektor zum grünen Binnenfeld; rechts: Blattquerschnitt im Bereich eines Überganges von einem graugrünen Sektor zum weißen Blattrand 84
- Abbildung 52: *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’. Blattquerschnitt (rechts) im Bereich des weißen Randes des links dargestellten Blattes. Das grüne Gewebe ist L1-bürtig. 85
- Abbildung 53: Mediane Längsschnitte durch Sprossscheitel, a: *Ctenanthe oppenheimiana* ‘Tricolor’, b: *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’, c: *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’ und d: *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’ 86

## Abkürzungsverzeichnis

2,4-D	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure
A	Gelb oder Aurea
AgNO <sub>3</sub>	Silbernitrat
BAP	6-Benzylaminopurine
DNS	Desoxyribonucleinsäure
G	Grün
IES (IAA)	3-Indolessigsäure
L1/L2/L3	Bezeichnung der Sprossscheitelschichten von außen nach innen (L=Layer)
M	Makulat
MS	Nährmedium nach Murashige und Skoog (1962)
NAA	$\alpha$ -Naphthylessigsäure
NMH	N-Nitroso-N-Methylharnstoff
TDZ	1-Phenyl-3-(1,2,3-Thiadiazol-5yl)Urea
W	Weiß



# 1 Einleitung

## 1.1 Variegationen und Chimärentheorie

Variegated Pflanzen haben eine sehr wichtige wirtschaftliche und wissenschaftliche Bedeutung. Die Popularität dieser Pflanzen wuchs in den letzten 20 Jahren und es ist heute normal, variegated Pflanzen in Parks, botanischen Gärten oder als Zimmerpflanze zu finden (TILNEY-BASSETT, 1986).

Variegated Pflanzen sind Pflanzen, die Flecken von verschiedenen Farben in dem Vegetationsteil entwickeln. (TILNEY-BASSETT, 1991). MARCOTRIGIANO (1997) definierte eine Variegation als die Erscheinung diskreter Musterungen von verschiedenen Farben in Organen oder im Organismus. Variegationen in Pflanzen erscheinen als Striche, Flecke und Streifen oder als unterschiedliche Farben zwischen Blattrand und Blattzentrum. Nach SCHUBERT und WAGNER (1991) wurde Variegation definiert als: „eine unregelmäßige Veränderung der Farbe pflanzlicher Organe, wie Blätter und Blüten, aufgrund der Unterdrückung einer normalen Pigmententwicklung“.

Man kann die Variegationen auf Grund ihrer Abstammung gliedern. Variegationen, die keiner Zelllinie folgen, sind typisch in Arten, Rassen oder Individuen mit gleichmäßigen Markierungen oder Mustern. Das Muster bei diesen Pflanzen wird genetisch bestimmt. FOOSCHEE und HENNY (1990) unterscheiden zwischen echten und anatomischen Variegationen. Blätter mit echten Variegationen stellen Bereiche mit wenig oder keinem Farbstoff dar, andere Variegationen beruhen auf anatomischen Merkmalen wie Haaren, Schuppen oder Lufträume in der Kutikula und Epidermiszellen. Für variegated Pflanzen von *Aglaonema* SCHOTT konnte nachgewiesen werden, dass das *V*-Gen und seine Reihe von fünf verschiedenen dominierenden Allelen für verschiedene variegated Musterungen verantwortlich sind (HENNY, 1986). Physiologische Bedingungen oder Krankheiten können auch zu variegated Musterungen führen. Chlorosis erscheint, wenn ein unregelmäßiger Verlust von Chlorophyll durch die Entwicklung stattfindet (TILNEY-BASSETT, 1991).

## 1.2 Mischzellen und Entstehung variegater Pflanzen

Durch Mutationen, die spontan oder künstlich erfolgen, kann es zu Defekten in der Strukturausbildung und im Pigmentgehalt der Chloroplasten kommen (HALBAUER, 1994). Als Folge der Mutationen können Zellen mit normalen und chlorophylldefekten Plastiden entstehen (Mischzellen). Solche Mutationen haben einen extranucleären Charakter, weil sich neben mutierten Chloroplasten stets noch unmutierte in der Mischzelle befinden. Aus der Literatur sind viele Pflanzenbeispiele bekannt, die wegen ihrer Weißbuntheit untersucht wurden und bei denen erfolgreich Mischzellen nachgewiesen wurden: *Oenothera* L. (SCHÖTZ, 1958); *Pelargonium* L'HER. ex AITON (BAUR, 1909; HAGEMANN und SCHOLZE 1974), *Stellaria media* (L.) VILL., *Antirrhinum majus* L. (HAGEMANN, 1960), *Crassula lactea* SOL. ex AITON (DU VINAGE, 1989), *Chlorophytum comosum* (THUNB.) JACQUES variegatum, *Rohdea japonica* (THUNB. ex MURRAY) ROTH AureoStriata (DU VINAGE, 1989).

Nach der Plastidenentmischungstheorie von BAUR (1909) entmischen dann diese Mischzellen während der Pflanzenontogenese. So kommt es zur Entstehung von weißen und grünen Abschnitten, die eine weißbunte Blattmusterung zur Folge haben (HALBAUER, 1994). Innerhalb der Dicotyledonen kann sich durch die Zellteilung der ausdehnenden Blätter die Variegation verbreiten. Die Variegation führt zu Mosaiken, Marmorierungen, Flecken oder Sektoren. Bei den Monokotylen wird die Zelllinie entlang der Längsachse entwickelt und auf den Blättern erscheinen Streifen. Weiße Musterungen auf Pflanzenblättern durch Mangel an Blattgrün in den Farbstoffträgern werden als Panaschierung bezeichnet (RASHID, 1993). POHLHEIM und PLASCHIL (1993) erklärte die Entstehung von panaschierten Pflanzen nach plötzlichen Merkmalsänderungen im Sprossbereich durch die somatischen Rekombinations- und Segregationsvorgänge und die plötzliche Merkmalsänderung infolge von Veränderungen der Umwelteinflüsse (Modifikation).

Variegationen, die eine Zelllinie folgen, stehen in Beziehung zum Zellteilungsmuster, das während der Entwicklung eines Sprosses stattfindet. Spontane oder induzierte Plastomutation in einer späteren Entwicklungszeit eines Blattes sind nicht zu erhalten. Die Möglichkeit eines relativ stabilen Musters ist gegeben, wenn eine Mutation im Sprossscheitel oder in einer Achselknospe zu einem frühen Entwicklungszeitpunkt geschieht. Verfolgt man die Entmischung von erbungleichen Chloroplasten einer Pflanzenzelle, so fallen verschiedene Mustertypen auf (DU VINAGE, 1989).

### 1.3 Extranucleäre Vererbung

Für die extranucleäre Vererbung sind Erbträger notwendig, die sich in der pflanzlichen Zelle außerhalb des Zellkerns befinden und unabhängig von ihm Desoxyribonucleinsäure (DNS) besitzen. Die DNS einer Eukaryontenzelle ist zum größten Teil im Zellkern organisiert; daneben enthalten auch die Organellen des Plasmas (Plastiden und Mitochondrien) einen großen Anteil gencodierender DNS (LINNERT und ODENBACH, 1997). Plasmaorganellen vermehren sich durch Zweiteilung nach einer normalen Replikation ihrer DNS. Eine Plastidenvererbung führt zu charakteristisch verschachtelten Scheckungsmustern an betroffenen Pflanzen.

Bei nicht-mendelnden Erbgängen unterscheidet man drei verschiedene Vererbungsformen:

- Mütterliche Vererbung (uniparental maternale)

Bei Pflanzen mit mütterlicher Vererbung üben die väterlichen Plastiden keinen Einfluss auf das Erbgeschehen aus. Die Nachkommenschaft aus einer solchen Kreuzung sieht deshalb wie die Mutter aus, z.B. makulate Mutterpflanze makulate F1 oder grüne Mutterpflanze grüne F1 (DU VINAGE, 1989). Folgende Pflanzen zeigen eine mütterliche Vererbung: *Antirrhinum majus* (BAUR, 1930); *Mirabilis jalapa* (CORRENS, 1909); *Stellaria media* (L.) VILL., *Hosta japonica* (Thunb) ASCH. ET GRAEBN, *Epilobium* L. und *Nicotiana tabacum* L. (HAGEMANN, 1960)

- Väterliche Vererbung (uniparental paternale)

Die väterliche Vererbung ist bei Angiospermen seltener aber bei den Gymnospermen häufiger. Diese Vererbung ist nicht so rein wie die mütterliche. In der Nachkommenschaft nach einer solchen Kreuzung sind zwar viele Pflanzen, die dem männlichen Elter ähneln, man findet aber auch solche, die mütterliche und väterliche oder nur mütterlichen Plastiden enthalten.

- Biparentale Vererbung

Bei Pflanzen mit biparentaler Vererbung entstehen Mischzellen während der Befruchtung durch das Zusammentreffen von mütterlichen und väterlichen Plastiden. Dadurch können weißbunte Musterungen bei *Pelargonium zonale* (L.) L'HER. Ex AITON, *Hypericum perforatum* L., *Oenothera* und *Nepeta cataria* L. entstehen (RENNER, 1936; HAGEMANN, 1960).

Nach SCHMIDT (1924) und BUDER (1928) ist der Apex der Angiospermen in eine äußerliche Tunica und den Korpus geteilt. Die Zellen in der Tunica teilen sich in der Regel antiklin und im Korpus sowohl in perikline als auch antikline Richtung. SATINA et al. (1940) bezeichneten die Schichten der Tunica von *Datura* L. von außen nach innen mit L1, L2, ..., Ln. (L = Layer)

Nach BERGANN (1955) ist die Anzahl der Tunicaschichten im Apex innerhalb der Angiospermen artspezifisch. Die meisten Pflanzen zeigen eine dreischichtige Scheitelkonstitution. In der Regel stammen die obere und untere Epidermis von L1 ab. Aus der L2 entstehen das Palisadenparenchym und ein oder mehrere Schichten des unteren Schwammparenchym. Das übrige Mesophyll, Leitgewebe und Wurzeln bildet die L3. Die Teilung der Zellen in den unterschiedlichen Schichten folgt normalerweise einem Muster, die L1 und L2 teilen sich antiklin aber die L3 kann sich antiklin und periklin teilen.

WINKLER (1935) definierte eine Chimäre als Pflanze, die im Sprossscheitel genetisch unterschiedliche Komponenten aufweist. ROMBERGER, HEJNOWICS und HILL (1993) definieren eine Chimäre als ein Organ, welches von einem genotypisch ungleichmäßigen Sprossscheitel hergeleitet wird. Nach TILNEY-BASSETT (1986) können Chimären durch spontane oder induzierte Mutation, Auslese panaschierter Sämlinge und durch Pfropfung entstehen. Variegation in höheren Pflanzen erscheint zunächst als Meriklinalchimäre. In der weiteren Entwicklung können sich in Sprossen und Achselknospen stabile periklinalchimärische Muster bilden oder die Musterung geht verloren (TILNEY-BASSETT, 1986).

Der Terminus Chimäre wurde als erstes von WINKLER (1907) für Pflanzen benutzt. Er nannte Chimäre die neue Pflanze, die aus dem Verwachsungsgewebe der Pfropfung von *Lycopersicon lycopersicum* (L.) KARST. ex FARW. (*Solanum lycopersicum* L.) auf *Solanum nigrum* L. entstand. BAUR (1909) führte Untersuchungen an *Pelargonium zonale* (L.) L'HER. ex AITON durch und verwandte den Begriff der Chimäre weiter. Anhand seiner Ergebnisse führte er zwei neue Begriffe ein: Sektorial- und Periklinalchimäre. Die Bezeichnung der Meriklinalchimäre wurde von JØRGENSEN und CRANE (1927) hinzugefügt. Diese Klassifikation der Chimären ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt gültig. Sektorialchimären zeigen in der Regel eine genetische Veränderung in einem Sektor durch alle Sprossscheitelschichten, bei einer Meriklinalchimäre ist die genetische Veränderung auf mindestens einen Bereich einer Sprossscheitelschicht begrenzt. Andererseits betrachtet man als Periklinalchimäre eine Pflanze, bei der die genetische Veränderung einheitlich in mindestens einer oder in verschiedenen Schichten des Sprossscheitels zu finden ist.

Variegated Pflanzen sind seit der Entwicklung des Chimären-Begriffes Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen (TILNEY-BASSETT, 1984). Musteranalysen wurden bereits bei vielen höheren Pflanzen, sowohl Mono- als auch Dicotyledonen, durchgeführt. RASHID (1993) führte anatomische und morphologische Untersuchungen an variegated Formen von *Hedera helix* L., *Schefflera arboricola* HAYATA und *Polyscias balfouriana* (hort. SANDER) L.H. BAILEY durch, um die periklinalchimärischen Konstitutionen nachzuweisen.

Die Chimärenforschung hat in den letzten Jahren dazu geführt, dass das Wesen der Buntblättrigkeit heute besser interpretiert werden kann (RASCHID, 1993). Mit Hilfe von Periklinalchimären oder gut markierten Ploidiechimären können Untersuchungen zur Histogenese vorgenommen und die Gewebebildung in Blatt, Spross oder auch in der Blüte verfolgt werden. Dadurch lässt sich erklären, welche Linien zwischen den einzelnen Zellklonen vorliegen und welche Muster möglich sind. Dieser Methode bedienten sich STEWART und DERMEN (1979) bei Untersuchungen an verschiedenen monokotylen Gattungen, um die Entwicklungsgeschichte der Pflanzen zu erklären.

Weißrand- und Weißkernpanaschierungen lassen sich normalerweise auf Grund der Musterbildung auf den Blattflächen und der anatomisch feststellbaren Verteilung von grünem und weißem Gewebe als Periklinalchimären interpretieren (TILNEY-BASSETT, 1984; RASCHID, 1993). Eine erste Einordnung der weißrandigen Mono- und Dikotylen nahm 1919 KÜSTER vor. In dieser Zeit wurden grundlegende Erkenntnisse zur Blattanatomie variegater Pflanzen gewonnen.

Die Periklinalchimären klassifizierte TILNEY-BASSETT (1963; 1986) nach Ursprung, Struktur und Verhalten. TILNEY-BASSETT (1986) teilte die blattvariegated Chimären in drei verschiedene Gruppen, je nachdem, wie die unterschiedlichen Komponenten im Sprossscheitel angeordnet sind: Dünnhaut-Chimäre, GWW und WGG; Dickhaut-Chimäre, GGW und WWG sowie Sandwich-Chimäre, GWG und WGW (G = grün, Gewebe bildet Chlorophyll aus; W = weiß, Gewebe bildet kein Chlorophyll aus). Die meisten blattvariegated Zierpflanzen gehören zu den Chlorophyllchimären mit einer periklinalchimärischen Konstitution (TILNEY-BASSETT, 1986; 1991).

## 1.4 Hypoderm und Beeinflussung der Musterbildung

### 1.4.1 Maskiertes und unmaskiertes Binnenfeld bei Periklinalchimären

Wenn bei variegaten Periklinalchimären der Konstitution grün-grün-weiß (GGW) chlorophylldefektes Gewebe an der Mesophyllbildung des Blattes beteiligt ist, dann zeigt das Muster des Blattes in der Regel ein helles Binnenfeld, das aber von grünem L2-bürtigem Gewebe maskiert wird, das heißt, mindestens eine grüne Zellschicht liegt zwischen Epidermis und chlorophylldefektem Mesophyllkern (BAUR, 1909). Beispiele dafür sind *Hypericum tetrapterum* FR. (NOACH, 1932), *Ligustrum ovalifolium* HASSK. (KÜSTER, 1919), *Hedera helix* 'Goldwolke' und *Pelargonium zonale* 'Freak of Nature' (POHLHEIM, 1984) Diese Chimären entstehen oft bei der Verdopplung der L1 von GGW-Periklinalchimären (TILNEY-BASSETT, 1986).

Eine Reihe von GGW-Chimären zeigen unmaskierte chlorophylldefekte L3-bürtige Binnenfelder im Blatt. Bei diesen variegaten Formen liegt keine L2-bürtige subepidermale grüne Schicht vor und das Binnenfeld erscheint weiß. Die Entstehung und Klassifizierung dieser Pflanzen als Chimären ist seit langem eine problematische Diskussion. Warum entsteht bei diesen Pflanzen keine Maskierung des L3-bürtigen Gewebes?

CHITTENDEN (1927) betrachtete diese Pflanzen nicht als Periklinalchimären sondern klassifizierte sie als 'peculiar' Chimären. KÜSTER (1937) war der Meinung, dass die Anordnung der unterschiedlichen Gewebe bei Grünrandformen von *Elaeagnus pungens* THUNB. keineswegs etwas mit einer Periklinalchimäre zu tun hatte. Er erklärte das Muster als eine aklonale Panaschierung, die durch eine Verdrängung der unter der Epidermis liegenden grünen Mesophyllschicht durch den darunterliegenden Weißkern möglich sei. Im Gegensatz zu KÜSTER ordnete RISCHKOW (1936) *Elaeagnus pungens* als eine Periklinalchimäre ein, in der die zweite Epidermalschicht nicht durch tangentielle Teilung des Dermatogens entsteht, sondern aus der Subepidermis hervorgeht.

IMAI (1934, 1935) untersuchte die Durchlässigkeit des Zentrums des Blattes und kam zu der Annahme, dass die mutierten Plastiden in den Zellen der Innenkomponente eine toxische Substanz sekretieren, die die grüne Farbe der darüberliegenden Zellen bleichen könnte.

Durch anatomische Untersuchungen bei Weiß- und Grünrandformen von *Elaeagnus pungens*, *Coprosma baueri* ENDL., *Ilex aquifolium* L., *Hoya carnosa* (L. F.) R. BR. und einer Weißrandform von *Nerium oleander* L. stellten BERGANN und BERGANN (1983b)

fest, dass ein Wassergewebe unter der Epidermis liegt. Solche subepidermalen Wassergewebeschichten werden nach NAPP-ZINN (1973) und PFITZER (1872) als Hypoderm bezeichnet. BERGANN und BERGANN (1983a) führten die Charakterisierung fort und erklärten, dass das Hypoderm von der L2 abstammt und es phänotypisch weiß erscheint, auch wenn es von einer genetisch grünen L2 gebildet wird. Dadurch tritt bei einer Chlorophylldefektmutation in L3 ein unmaskiertes Binnenfeld im Blattmuster auf.

RASHID (1993) führte anatomische Untersuchungen an *Schefflera arboricola* 'Gold Capella' (GGGW) durch und fand an der Blattoberseite ein zwei- bis dreischichtiges L1-bürtiges Hypoderm. Diese Blattstruktur hat zur Konsequenz, dass bei *Schefflera arboricola* 'Gold Capella' auch eine chlorophylldefekte L4-Komponente als unmaskiertes Binnenfeld vorliegen kann. (RASHID, 1993).

Die Ausbildung eines sowohl blattoberseitigen als auch blattunterseitigen Hypoderms ist bei vielen Pflanzen bekannt. BERGANN und BERGANN (1983a) beschrieben es bei *Ilex*. Jedoch liegen solche Verhältnisse auch bei verschiedenen Monokotylen vor (BIELE, 1992).

### **1.5 Beteiligung der ersten Sprossscheitelschicht (L1) an der Bildung von Epidermis und Mesophyll des Laubblattes**

Normalerweise folgen die Zellen in den unterschiedlichen Schichten eines Sprossscheitels einer bestimmten Teilungsrichtung. Die L1 und L2 teilen sich in der Regel antiklin, aber die L3 kann sich sowohl antiklin als auch periklin teilen.

Untersuchungen an Sprossscheiteln von Periklinalchimären zeigten, dass die L1 sich in einigen Fällen periklin teilt und an der Mesophyllbildung der Laubblätter beteiligen kann (BERGANN, 1983b; POHLHEIM, 1971). Es existieren Periklinalchimären, bei denen während der Blattentwicklung L1-Derivate nach innen abgegeben werden und somit zur Mesophyllbildung beitragen (POHLHEIM, 1983).

Anhand des Ausmaßes der L1-Beteiligung an der Mesophyllbildung der Laubblätter klassifizierte TILNEY-BASSETT (1986) die Periklinalchimären in drei verschiedene Gruppen:

A) Periklinalchimären, deren L1-bürtige Zellen häufig, aber unregelmäßig an der Mesophyllbildung am Blattrand teilnehmen. In dieser Gruppe sind grüne bzw. weiße Randohren oder Flecken und unterbrochene Blattränder zu finden.

Um Variegationsmuster bei heterohistischen Monokotylen zu klassifizieren, fand BIELE (1992) an neun weißrandigen Arten von drei verschiedenen Familien eine zufällige Beteiligung der L1 am Randmesophyll. Anatomische Untersuchungen zeigten, dass im Bereich der Blattspitze am Blattrand im weißen Gewebe direkt unter der Epidermis häufig grüne Zellen liegen, die keine Verbindung zu dem grünen Binnenfeld haben. BIELE (1992) vermutete, dass man die Reduplikation der L1 mit einer unterschiedlichen Vitalität von grünem L1-bürtigen und weißem L2-bürtigem Gewebe erklären könnte. Nach weiteren Untersuchungen fand er heraus, dass die Spitze beim Monokotylen-Blatt der Teil ist, der sich zuerst differenziert, und dass möglicherweise das grüne Gewebe das weiße ersetzt, bis dieses mit der Entwicklung Schritt halten kann (Tabelle 1).

Ähnliche Ergebnisse fand RASHID (1993) bei den Dicotylen. Er analysierte anatomisch und morphologisch verschiedene Periklinalchimären der Familie *Araliaceae*. An dem weißen Rand von *Hedera helix* 'Glacier' (GWG), *Schefflera arboricola* 'Henriette' (GWG) und *Polyscias balfouriana* (SANDER ex. ANDRÉ) L.H. 'Marginata' (GWGG) treten, wie bei den Monokotylen, kleine grüne Mesophyllbereiche auf. Diese kleinen grünen Randbereiche folgen keinem regelmäßigen Muster und sind an verschiedenen Stellen zu finden. Im Gegensatz dazu zeigen die Sorten 'Bruder Ingobert' und 'Schäfer III' von *Hedera helix* am weißen Rand der Blattspreite größere grüne Mesophyllbereiche. Aus diesen beiden Sorten gehen wiederum die Sorten 'Stift Neuburg' bzw. 'Schäfer III Ausl.' hervor. Bei ihnen ist dieser grüne Rand gleichfalls vorhanden, es fehlt jedoch das grüne Binnenfeld. RASHID (1993) kam zu dem Schluss, dass der unterbrochene grüne Blattrand L1-bürtig ist. Die regelmäßige L1-Beteiligung an der Mesophyllbildung wurde auf Wuchsunterschiede zwischen den nach weiß mutierten L2-Komponenten und den grünen, aber zu stärkerer Wüchsigkeit mutierten L1-Komponenten zurückgeführt (POHLHEIM und KAUFHOLD, 1985).

B) In die zweite Gruppe gehören die Periklinalchimären, deren L1-bürtige Zellen stark an der Blattmesophyllbildung teilnehmen und das gesamte Randmesophyll bilden.

Im Unterschied zu den Dicotylen beteiligt sich L1-bürtiges Gewebe bei den Monokotylen häufiger an der Mesophyllbildung (WEGNER, 1998). Beispiele unter den Monokotylen sind *Sansevieria trifasciata* Prain. 'Laurentii' (SCHNEIDER, 1996), *Chlorophytum comosus* (THUMB.) JACQUES 'Variegatum' und *Dracaena deremensis* ENGL. 'Warneckii' (BIELE, 1992). Ein klassisches Beispiel unter den Dicotylen ist *Pelargonium zonale* 'Freak of Nature' (POHLHEIM, 1973).



Tabelle 1: Liste der Pflanzen mit zufälliger Beteiligung der L1 an der Mesophyllbildung nach BIELE, 1992.

Familie	Pflanze	Blattmuster
<i>Agavaceae</i>	<i>Dracaena reflexa</i> LAM. 'Song of India'	GWG
<i>Bromeliaceae</i>	<i>Ananas comosus</i> (L.) MERR. 'Variegatus'	GWG
	<i>Aechmea fasciata</i> (Lindl.) BAK. 'Marginata'	GWG
	<i>Neoregelia</i> L. B. 'Flandria'	GWG
	<i>Guzmania</i> RUIZ et PAV. 'Remembrance WR'	GWG
	<i>Vriesea</i> LINDL. 'Splendide-Marginata'	GWG
<i>Commelinaceae</i>	<i>Campelia zanonina</i> (L.) H.B.K. 'Mexican Flag'	GWG
	<i>Tradescantia fluminensis</i> YELL. EMEND. BRÜCKN. 'Albo-Striata'	GWG
	<i>Tradescantia crassula</i> LINK et. OTTO. 'Variegata'	GWG
Vegetative Entmischung	GM	
<i>Commelinaceae</i>	<i>Callisia repens</i> L. 'Variegata'	GG, GW
	<i>Tradescantia albiflora</i> KUNTH EMEND. BRÜCKN. 'Albo-Vittata'	GG, GW
	<i>Tradescantia cerinthioides</i> KUNTH. 'Variegata'	GG, GW
<i>Liliaceae</i>	<i>Aspidistra elatior</i> BL. 'Variegata'	GG, GW
Sämlinge	GM	
<i>Commelinaceae</i>	<i>Commelina benghalensis</i> L.	GG, GM
	<i>Hippeastrum</i> HERB.	GG, WW,GM

G = grün; M = makulat; W = weiß, GM = grün - makulat

C) In die dritte Gruppe gehören die "Immerspaltenden Periklinalchimären". Bei diesen Chimären findet regelmäßig eine im Ausmaß unregelmäßige Beteiligung der L1-bürtigen Gewebe an der Mesophyllbildung statt.

- Gymnospermen

*Juniperus sabina* L. 'Variegata' wurde bei HEJNOWICZ (1956, 1959) als eine Periklinalchimäre der Konstitution WG klassifiziert. Er erklärte die Entstehung der weißen Sektoren durch perikline Teilungen in der L1 des Sprossscheitels. POHLHEIM (1971) führte anatomische und histologische Untersuchungen an 11 weiß- bzw. gelbbunten Formen der Familie *Cupressaceae* durch und konnte nachweisen, dass die Panaschüre, die sich in chlorophylldefekten Sprosssektoren und schließlich in mehr oder weniger großen chlorophylldefekten Sprossbereichen äußern, tatsächlich durch das häufige Aufspalten der periklinalchimärischen Konstitution weiß über grün (WG) zustande kommt.

- Dikotyledonen

Der Zierstrauch *Spiraea bumalda* 'Anthony Waterer' (KÜSTER, 1919 und 1927; TILNEY-BASSETT, 1963; POHLHEIM, 1971) und *Mentha arvensis* 'Variegata' (POHLHEIM, 1971) sind durch häufiges Auftreten L1-bürtiger Mesophyllbildungen gekennzeichnet und lassen sich als "Immerspaltende Periklinalchimären" interpretieren. Das Ausmaß dieser L1-Beteiligungen ist jedoch sehr ungleichmäßig und nicht vorhersehbar. Die Stabilität solcher Formen wird dadurch gewährleistet, dass ihre Scheitelkonstitution vor der Aufspaltung im Hauptscheitel in den Achselknospen reproduziert wird und dass die homohistischen L1-bürtigen Sprosse aufgrund des Chlorophylldefektes eingeschränkt lebensfähig sind. Bei anatomischen Untersuchungen zur Kelchentwicklung von *Mentha arvensis* 'Variegata' wurden ebenfalls regelmäßig perikline Teilungen in L1 beobachtet (POHLHEIM, 1971). Bei den Monokotylen wurden bis jetzt keine "Immerspaltenden Periklinalchimären" gefunden.

## 1.6 Partnerinduktion

Als Partnerinduktion werden 'interzelluläre Genwirkungen' bezeichnet, die auftreten können, wenn genetisch unterschiedliche Gewebe in unmittelbarem Kontakt stehen (BERGANN, 1961b, 1962; POHLHEIM und RÖSSEL, 1989; RÖSSEL, 1990). POHLHEIM und RÖSSEL (1989) und RÖSSEL (1990) haben Partnerinduktion in zwei prinzipiell verschiedene Wirkungen gegliedert:

- a) **Hemmwirkung** des genetisch defekten Partners auf den unmutierten Partner bei der Merkmalsausbildung.
- b) **Kompensationswirkung** des genetisch intakten Partners auf den mutierten Partner bei der Merkmalsausbildung.

Partnerinduktion wurde normalerweise für die Erklärung von chimärischen Blütenmustern sowie Brakteen verwendet. In einer Reihe von Untersuchungen konnte eine Kompensationswirkung nachgewiesen werden z.B. bei *Pelargonium zonale* 'Rosa Liebling' (POHLHEIM und RÖSSEL, 1989; RÖSSEL, 1990), der 'Chimera'-Sortengruppe von *Saintpaulia ionantha*, verschiedenen sternmusterblütigen Sorten von *Pelargonium-Zonale*- und *P.-Peltatum*-Hybriden, *Rhododendron simsii*, der *Verbena*-Hybride 'Aphrodite' (PLASCHIL, 1997) und einer *Petunia*-Hybride (OLBRICHT, 1994; 1998; OLBRICHT & POHLHEIM, 1996; POHLHEIM et al., 1994).

Erstmalig wurde die Partnerinduktion in Form einer Hemmwirkung an den Blättern bei *Pelargonium zonale* 'A Happy Thought' nachgewiesen (BERGANN, 1961a und 1962; POHLHEIM und RÖSSEL, 1989). Bei dieser Pflanze liegt eine chlorophylldefekte L3 vor, jedoch ist das Binnenfeld unmaskiert. Im Bereich des hellen Binnenfeldes schließt sich unmittelbar an die Epidermis chlorophylldefektes Mesophyll an. POHLHEIM und RÖSSEL (1989) interpretierten das Phänomen als eine Chlorophylldefektinduktion der mutierten L3-bürtigen Zellen auf die genetisch normalen L2-bürtigen Zellen. Weitere Beispiele solcher negativen Wirkungen sind nicht bekannt.

WEGNER (1998) berichtete über die Kompensationswirkung am Klon 3/76 von *Pelargonium zonale* 'Kleiner Liebling' und an *Thymus x citriodorus* (PERS.) SCHREB. 'Lemon Thyme'. Bei diesen Pflanzen handelt es sich um Mesochimären mit chlorophylldefekter L2 zwischen chlorophyllintakter L1 und L3. Anatomische Untersuchungen an beiden Pflanzen ergaben jedoch, dass sich keine chlorophylldefekte Subepidermale im Bereich des grünen Binnenfeldes befindet. Beim Klon 3/76 von *Pelargonium zonale* 'Kleiner Liebling' sind normal ausgebildete Chloroplasten in der untersten Zelllage des Schwammparenchyms im Bereich des hellen Blattrandes zu finden, aber in allen anderen Mesophyllzellen sind diese nur schwach entwickelt. WEGNER (1999) interpretierte die unterste Mesophyllschicht des gesamten Blattes und Blattrandes als L1-bürtig und den hellen Blattrand als partnerinduktiv modifiziert.

Besonders erwähnenswert in diesem Zusammenhang ist der Bericht von STUBBE (1958) über Wechselwirkungen zwischen Geweben mit zwei erblich verschiedenen Plastidentypen in *Oenothera x albivelutina* (*O. suaveolens* x *O. lamarkiana*). Die untersuchten Pflanzen enthielten in einigen Gewebepartien gelbgrüne und in anderen Geweben weiße Plastiden. In den Blattbereichen, in denen Gewebe mit weißen und gelbgrünen Plastiden direkt übereinander lagen, kam es zum Ergrünen der weißen Plastiden.

## 1.7 Problemstellung

Für die Pflanzenzüchtung ist sowohl das Prinzip der Stabilität als auch das Prinzip der Veränderlichkeit von elementarer Bedeutung. Ein erreichtes hohes genetisches Niveau einer Sorte soll nach Möglichkeit erhalten werden. Für die Neuzüchtung ist allerdings die Schaffung bzw. Nutzung von Variabilität notwendig, um neue Pflanzentypen auslesen zu können. Meine Untersuchungen beschäftigen sich mit Prinzipien der Variabilität im somatischen Bereich, konzentrieren sich also auf das vegetative Wachstum der Pflanzen. Die Anwendung der Erkenntnisse aus diesem Bereich der Züchtungsforschung bezieht sich vor allem auf vegetativ vermehrbare Arten, hat aber auch für generativ vermehrbare Arten Bedeutung.

Das Hauptziel dieser Arbeit ist die Erklärung der Entstehung der verschiedenen Variegationen bei ausgewählten Formen der *Araceae*, *Asteraceae*, *Ericaceae*, *Marantaceae* und *Rosaceae*. Die ausgewählten Pflanzen zeigen verschiedene Merkmale, die Chimären vermuten lassen. In allen zu bearbeitenden Fällen gibt es jedoch Abweichungen von typischen Chimärenmustern. Deshalb muss eine kritische Überprüfung der Chimärenhypothese für diese in der Regel buntblättrigen Formen vorgenommen werden. Von Bedeutung für die Wahl der Objekte war, dass für die verschiedenen Musterungen mindestens ein Vertreter der Mono- bzw. Dicotyledonen zur Verfügung stand.

Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit ist somit die Klärung folgender Fragen:

### **Blattmuster mit unregelmäßiger makulater Musterung**

1. Bei *Monstera deliciosa* und *Syngonium podophyllum* liegen zwei variegated Formen mit sehr unregelmäßigen Scheckungsmustern vor. Diese Muster deuten auf Entmischungsmuster hin, wie sie nach Plastommutationen auftreten. Die Plastidentmischung müsste jedoch, wenn sie im apikalen Bereich erfolgt, und wenn eine stabile Scheitelschichtung vorliegt, zu Periklinalchimären führen. Zu erwartende Weißrand- oder Weißkernformen sind in der Familie *Araceae* jedoch bisher nicht bekannt.

Es soll untersucht werden, ob die Bildung von Weißrand- bzw. Weißkernformen bei *Monstera* und *Syngonium* möglich ist.

2. Bei Chrysanthemen sind wie bei der Familie *Araceae* keine weißrandigen oder weißkernigen Periklinalchimären bekannt. An den Sorten ‘Pirol’ und ‘Luyona’ von *Dendranthema grandiflorum* traten sehr unregelmäßige Scheckungsmuster auf, die phänotypisch einer Plastommutation entsprechen. Diese Objekte werden vergleichend zu den Untersuchungen an *M. deliciosa* und *S. podophyllum* herangezogen.

Es soll untersucht werden, ob die Bildung von Weißrand- bzw. Weißkernformen bei den Sorten ‘Pirol’ und ‘Luyona’ von *Dendranthema grandiflorum* möglich ist.

### **Untersuchungen zur Problematik ‘Immerspaltende Periklinalchimären’**

3. *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’ wird von TILNEY-BASSETT (1984) als eine Periklinalchimäre der Konstitution GA (G= grün; A = gelb oder aurea) angesehen. An *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’ treten regelmäßig grüne Sprosssektoren bei den Austrieben auf. Es soll überprüft werden, ob diese Pflanze eine periklinale Chimäre der Konstitution GA ist und ob die grünen Sektoren als das Ergebnis von L1-Reduplikationen im Sprossscheitel angesehen werden können.

4. Vergleichend zu den Untersuchungen an *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’ soll eine Blütenfarbvariante von *Spiraea bumalda*, die Sorte ‘Shirobana’, analysiert werden. Hier treten an weißen Blütenblättern rote Sektoren sowie auch gänzlich rote Blüten auf. Es soll überprüft werden, ob die Ursache für die Bildung der Rotsports bei ‘Shirobana’ eine Chimärentmischung ist.

### **Hypoderm und Beeinflussung der Musterbildung**

5. *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’ (*Marantaceae*) hat ein Variegationsmuster, bei dem im Inneren der Blattfläche hellgrüne bis gelblichweiße Bereiche auftreten.

Es soll überprüft werden, ob *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’ eine Chimäre der Konstitution GGW ist. Dazu muss untersucht werden, ob die Bildung eines Hypoderms bei *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’ die Musterbildung modifiziert.

6. Bei *Ctenanthe oppenheimiana* ‘Tricolor’ zeigt das Blatt ein grünes Binnenfeld und einen weißen Rand. An den weißen Rand schließen sich selten schmale grüne Randstreifen an. Dieses Muster entspricht vom Phänotyp einer periklinalchimärischen Grünkernform.

Wenn die GWG-Hypothese angenommen werden soll, muss nachgewiesen werden, inwieweit bei *Ctenanthe lubbersiana* ‘Tricolor’ hypodermale Wassergewebe die Musterbildung beeinflussen.

7. Bei *Rhododendron* liegt mit der Sorte ‘Goldflimmer’ eine variegated Form mit einem hellen Binnenfeld vor.

Das helle Binnenfeld ist jedoch in weiten Bereichen unmaskiert, so dass auch hier überprüft werden muss, ob ein Hypoderm vorhanden ist und ob es die Musterbildung beeinflusst. Für *Rhododendron* sind derartige Zusammenhänge bisher nicht bekannt. Dieses Objekt wird vergleichend zu den Untersuchungen an *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’ herangezogen.

8. *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’ weist Weißrandblätter auf, die phänotypisch einer periklinalchimärischen Konstitution GWG zugeordnet werden können. An den weißen Rand schließen sich wie bei *Ctenanthe oppenheimiana* ‘Tricolor’ selten schmale grüne Randstreifen an.

Anhand von Untersuchungen soll geklärt werden, ob *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’ eine Chimäre der Konstitution GWG ist und ob die schmalen grünen Randstreifen L1-bürtig sind.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Pflanzenmaterial

Für die Untersuchungen und histogenetische Erklärung der Musterbildung an variegaten Formen innerhalb der Mono- und auch der Dicotyledonen wurden verschiedene Gattungen der *Araceae*, *Asteraceae*, *Ericaceae*, *Marantaceae* und *Rosaceae* genutzt.

#### 2.1.1 *Araceae*

##### 2.1.1.1 *Monstera deliciosa* LIEBM. ‘Variegata’

Etwa 50 *Monstera*-Arten sind im tropischen Mittel- und Südamerika verbreitet. *Monstera deliciosa* wurde um 1848 in Europa eingeführt. Sie ist ein kletternder Strauch mit starken, verholzenden Ästen und zahlreichen Luftwurzeln. Die Blätter sind meist zweireihig, in der Jugend herzförmig und ganzrandig. Im Alter weisen sie die typischen, unregelmäßigen Löcher oder Einschnitte auf. *Monstera deliciosa* ‘Variegata’ hat weißbunte Blätter (Abbildung 1). Der Blattstiel ist 30 bis 50 cm lang. Die Blattspreite ist derb ledrig, 50 bis 100 cm lang und 40 bis 70 cm breit (BÄRTELS, 1989; HABERER, 1990).



Abbildung 1: *Monstera deliciosa* ‘Variegata’

#### 2.1.1.2 *Syngonium podophyllum* SCHOTT ‘Variegata’

Die Gattung ist mit etwa 20 Arten von Mexiko bis Brasilien verbreitet. *Syngonium podophyllum* ist eine kletternde Art. Sie bildet an den Austrieben sehr leicht Luftwurzeln. Die Sorte ‘Variegata’ besitzt weiß- grün gescheckte Blätter (Abbildung 2).



Abbildung 2: *Syngonium podophyllum* ‘Variegata’

#### 2.1.2 *Asteraceae*

Mit 20 000 Arten sind die *Asteraceae* (= Compositae, Korbblütler) die bei weitem arten- und individuenreichste Familie der Dikotyledonen. Die Arten der *Asteraceae* sind weltweit verbreitet und viele werden als Zierpflanzen kultiviert. Eine der bekannten Gattungen dieser Familie ist *Dendranthema* (syn. *Chrysanthemum*).

##### 2.1.2.1 *Dendranthema grandiflorum* (RAMAT.) KITAM. ‘Pirol’

*Dendranthema grandiflorum* ‘Pirol’ ist eine in der Regel gelbblühende Pflanze mit grünem Blattwerk. 1991 entstanden spontan auf den Blätter Blattzeichnungen mit starker Trennung heller und grüner Bereiche (Abbildung 3) (KNUTH, mündliche Information).





Abbildung 3: *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'

#### 2.1.2.2 *Dendranthema grandiflorum* (RAMAT.) KITAM. 'Luyona'

Unter normalen grünen Stecklingen von *Dendranthema grandiflorum* 'Luyona' wurden durch KNUTH im Jahr 1994 variegated Blattzeichnungen (im Muster 'Pirol' ähnlich) gefunden (Abbildung 4)(KNUTH, mündliche Information).



Abbildung 4: *Dendranthema grandiflorum* 'Luyona'

### 2.1.3 *Ericaceae*

#### 2.1.3.1 *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’

Rhododendren sind Holzgewächse aus der Familie der *Ericaceae* (MOSER, 1991). Weltweit werden 800 bis 1000 Arten der Gattung *Rhododendron* L. unterschieden. Durch Züchtungen sind unzählige Sorten in vielen Farben entstanden (HABERER, 1990), deswegen sind die Hybriden schwierig in eine bestimmte Gruppe einzuordnen. Die Blätter sind länglich-elliptisch, ganzrandig, 3 bis 4 cm lang und immergrün. Die Blüten sind weiß, rosa oder rot (von SENGBUSCH, 1989).

Die *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’ wurde um 1955 von D.G. HOBBIIE gefunden und um 1983 von H. HACHMANN eingeführt. Sie ist wuchsdicht, niedrig, bis 60 cm hoch bzw. 110 cm breit. Die Blüten sind lila mit braungelber, fleckenartiger Zeichnung (HACHMANN, 1994; MOSER, 1991). Bei der Sorte ‘Goldflimmer’ liegt eine variegated Form mit einem hellen Binnenfeld im Laubblatt vor (Abbildung 5).



Abbildung 5: Die *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’

#### 2.1.3.2 *Rhododendron simsii* PLANCH. ‘Andenken an Vater Hedusch’

*Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’ weist eine grüne Blattmitte mit schmaler weißer Randpanaschierung auf. Charakteristisch ist dabei, dass das Blatt zur Blattmitte hin dunkler und am Rand heller gefärbt ist. Der weiße Randbereich wird selten

von kleinen, normal grünen Randecken unterbrochen (Abbildung 6).



Abbildung 6: *Rhododendron simsii* 'Andenken an Vater Hedusch'

#### 2.1.4 *Marantaceae*

##### 2.1.4.1 *Ctenanthe lubbersiana* (E. MORR.) EICHEL: ex O.G. PETERS 'Variegata'

*Ctenanthe lubbersiana* bildet einen dichten, etwa 75 cm hohen Busch. Die Stängel sind lang und die Blätter lanzettlich zugespitzt und bis 25 cm lang und 12 cm breit. *Ctenanthe lubbersiana* hat ein Variegationsmuster, bei dem im Inneren der Blattfläche hellgrüne bis gelblichweiße Bereiche auftreten. Die jungen Blätter haben ein hellgrünes Binnenfeld. Das hellgrüne Binnenfeld in der Mitte der Blätter dehnt sich vom Blattmittelnerv nach außen hin aus. Die Grenze zwischen Hellgrün und Grün stimmt meistens mit dem Seitennerv überein. Übergangsfarbtöne wurden beobachtet. Im Gegensatz zu den jungen Blätter haben die alten Blätter weiße Binnenfelder (Abbildung 7).



Abbildung 7: *Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata'.

#### 2.1.4.2 *Ctenanthe oppenheimiana* (E. MORR.) K. SCHUM. 'Tricolor'

*Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor' ist ein kräftiger, immergrüner, perennierender Busch, der ungefähr einen Meter hoch wächst. Die Blätter sind lanzettlich, bis 30 cm lang und 12 cm breit. Auf der Blattoberseite treten drei Farben auf: weiß, graugrün und dunkelgrün, die Unterseite ist rot. Bei *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor' befindet sich um ein grünes Binnenfeld ein mehr oder weniger breiter weißer Rand. An den weißen Rand schließen sich mitunter kleine grüne Randbereiche an, die keine Verbindung zum grünen Binnenfeld aufweisen (Abbildung 8). In der Literatur wird *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor' unter anderem von STEWART und DERMEN (1979) und TILNEY-BASSETT (1986) erwähnt.

Zum Vergleich wurde ein Normalform von *Ctenanthe oppenheimiana* untersucht (Abbildung 43). Sie zeigt nur die Hellgrün- Dunkelgrünmusterung des Blattes. Es fehlt der chlorophylldefekte Rand von 'Tricolor'.



Abbildung 8: *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor'

### 2.1.5 Rosaceae

#### 2.1.5.1 *Spiraea bumalda* BURV. 'Goldflame'

*Spiraea bumalda* 'Goldflame' ist ein schwachwüchsiger, dichtbuschiger Strauch, der bis ungefähr 0,8 Meter hoch wächst. Die Blätter sind ca. 7 cm lang und die Farbe ist im Laufe des Jahres unterschiedlich, im Austrieb bronzeorange, später goldgelb, im Sommer grüngelb und im Herbst kupfrig-orange (Abbildung 9). Die kleinen Blüten sind karminrosa.



Abbildung 9: *Spiraea bumalda* 'Goldflame'



#### 2.1.5.2 *Spiraea bumalda* BURV. ‘Shirobana’

*Spiraea bumalda* ‘Shirobana’ ist ein Zwergstrauch mit aufrechten Zweigen, der ungefähr einen Meter hoch wächst. Die Blätter sind hellgrün und lanzettlich. Die doldigen Blütenstände besitzen weiße Blüten, jedoch treten häufig auch einheitlich rote Blüten oder weiße Blüten mit roten Sektoren in den Dolden auf (Abbildung 10).



Abbildung 10: *Spiraea bumalda* ‘Shirobana’

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Entmischung

Zur Überprüfung der chimärischen Konstitution von *Syngonium podophyllum*, *Spiraea bumalda* und *Dendranthema grandiflorum* wurden verschiedene Entmischungsmethoden verwendet.

#### 2.2.1.1 Entmischung durch BATESON-Test (BATESON, 1916)

Wurzeln sind im histogenetischen Sinne ausschließlich L3-Deszendenten (SCHEEL, 1965). Die Regeneration von Sprossen aus isolierten Wurzeln kann zu einer Entmischung der inneren Komponenten einer Chimäre führen und eine Pflanze hervorbringen, die dem Genotyp der dritten Scheitelschicht entspricht.

Zur Provokation von Sprossregeneraten aus Wurzeln von *Spiraea bumalda* 'Shirobana' bzw. 'Goldflame' wurden zwei Wege beschritten.

### **Wurzelstecklingsversuch**

10 cm lange Wurzelstücke wurden in mit einem Sand-Torfgemisch von 1:1 gefüllte Tonschalen gesteckt. Die proximalen Enden ragten bis 1 cm aus dem Substrat. Danach wurden die Schalen mit einer Glasplatte bedeckt im Gewächshaus aufgestellt.

### **Modifizierter Wurzelfreilegungsversuch**

Vier Monate alte bewurzelte Stecklinge wurden in Tonschalen eingepflanzt, die mit einem 1:1 Sand-Torfgemisch gefüllt waren. Die Sprossachsen der Pflanzen wurden mit einem Messer 10 cm tief abgestochen, alle Erde entfernt und die freien Wurzeln mit einer Rasierklinge noch mal abgeschnitten; die Tonkästen wurden mit Bechergläsern abgedeckt, um sie gegen Austrocknung zu schützen und im Gewächshaus aufgestellt.

#### **2.2.1.2 Entmischung nach Selbstungen**

Zur Überprüfung der Existenz von Mischzellen bei den Sorten 'Pirol' bzw. 'Luyona' von *Dendranthema grandiflorum* wurden ganze Doldenrispen von makulaten Pflanzen eingetütet, damit die Blüten nur Pollen von der selben Doldenrispen bekommen. So wurde eine erfolgreiche Selbstbestäubung erreicht. Nach der gleichen Methode wurden auch Doldenrispen von rein grünen bzw. weißen Trieben behandelt.

Reife Samen wurden auf feuchtem Filterpapier in Petrischalen zur Keimung ausgelegt. Die Petrischalen wurden im klimatisierten Kulturraum bzw. im Wachstumsraum unter Dauer-Kunstlicht und bei ca. 22°C aufgestellt. Nach der Keimung wurden die Sämlinge in Jungpflanzen-Paletten pikiert und in einem Folientunnel unter 90% Luftfeuchtigkeit weiterkultiviert.

#### 2.2.1.3 Spontane Entmischung

Bei *Syngonium podophyllum* und *Monstera deliciosa* wurden Stecklinge von Pflanzen entnommen, die einen Blattbereich mit feinem Grün-Weiß-Mosaik hatten. Ausreichend große Klone dieser bunten Formen von *Syngonium* wurden zwei Mal und von *Monstera* einmal weitervermehrt und beobachtet. Die entmischten Sprosse wurden vegetativ über Stecklinge vermehrt und als neue Klone aufgebaut.

#### 2.2.1.4 Entmischung nach In-vitro-Kultur

In der Regel werden Pflanzen mit Vermehrungsschwierigkeiten durch verschiedene In-vitro-Techniken unter aseptischen Bedingungen weiter kultiviert. Damit unterschiedliche Musterungen bei chimärischen Pflanzen erhalten werden können, lassen sich diese Pflanzen nur durch Sprossspitzen und Axillarsprosse vermehren. In Gegensatz dazu führt die Kalluskultur dieser Pflanzen mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Trennung der chimärischen Gewebe. Deswegen gilt dieses Verfahren als eine Nachweismethode von Chimären.

In-vitro-Kultur ist eine indirekte Form, um die Existenz von Mischzellen (Zellen mit unterschiedlichem Chlorophyllgehalt) zu beweisen. Mittels dieser Technik wird jenen Zellen eine Gelegenheit zur Entwicklung gegeben, die sich im allgemeinen unter Gewächshausbedingungen oder im Freiland nicht entwickeln können.

#### **In-vitro-Kultur bei *Spiraea bumalda***

Die erfolgreiche In-vitro-Vermehrung von *Spiraea bumalda* ist bei den Sorten 'Anthony Waterer' und 'Froebeli' durch Sprossmeristemkultur (LANE, 1979 und NORTON, 1982) und bei der Sorte 'Froebeli' durch Sprosskultur (NORTON, 1986) nachgewiesen worden. COFFIN et al.(1976) fanden heraus, dass es bei Explantaten von *Spiraea vohouttei* (BRIOT.) ZAB. (*S. cantoniensis* x *S. trilobata*) auf MURASHIGE und SKOOG (1962) Nährmedien (MS Medium) mit 0,25 mg/l 2,4-D und 0,2 mg/l Kinetin zu einer Kallusbildung kam, aber keine



Sprossbildung stattfand. Bei *Spiraea bumalda* ist bis jetzt keine erfolgreiche In-vitro-Vermehrung durch Kalluskultur bekannt.

## Nährmedium

Das Grundmedium bei Spross-, Kallus- und Internodienkultur war ein MS-Medium (1962). Für die Wurzelinduktion wurde die halbe Konzentration der Makrosalze verwendet. Dem Grundmedium wurden je nach Versuch und Pflanze bzw. Sorte folgende Phytohormone und Zusätze hinzugefügt: 6-Benzylaminopurin (BAP), 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D),  $\alpha$ -Naphthylessigsäure (NAA), Indol-3-Essigsäure (IAA), Kinetin, 1-Phenyl-3-(1,2,3-Thiadiazol-5-yl)Urea (TDZ) und Silbernitrat ( $\text{AgNO}_3$ ). Die Konzentration der Phytohormone variierte je nach Versuch und Pflanze.

Der Zuckergehalt betrug 0,3% bis 0,6%. Der pH-Wert der Medien wurde vor dem Autoklavieren mit 1N NaOH oder 1N HCl auf 5,8 eingestellt. Das Medium wurde verfestigt mit 0,8 % Agar (Sigma). Die mit Nährmedium gefüllten und mit Aluminiumfolie verschlossenen Kulturgefäße (Petrischalen, Fästerröhrchen, Erlenmeyerkolben) wurden 20 Minuten bei 121°C und 1,2 at autoklaviert.

In den ersten Versuchen, bei denen Kallus aus aseptischen Blättern von *Spiraea bumalda* 'Shirobana' induziert werden sollte, wurden die Wirkung und Interaktion von verschiedenen Konzentrationen von IES und BAP bzw. 2,4-D und BAP geprüft. Jeder Versuch bestand aus 16 Varianten mit 6 Wiederholungen pro Phytohormonbehandlung. Dabei wurde jedes Explantat wie eine Wiederholung bewertet. Die Phytohormonkonzentrationen und -kombinationen für die Kallusinduktionsmedien sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Konzentrationen und Phytohormonkombinationen für den Kallusinduktionsversuch an Blättern von *Spiraea bumalda* 'Shirobana'.1998.

Zytokinin (mg/l)	Auxin (mg/l)			
	0	1	2	5
0	0:0	0:1	0:2	0:5
0,5	0,5:0	0,5:1	0,5:2	0,5:5
1	1:0	1:1	1:2	1:5
2	2:0	2:1	2:2	2:5

Aufgrund positiver Ergebnisse mit 2,4-D und BAP wurden weitere Kallusinduktionsversuche bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana' bzw. 'Goldflame' durchgeführt. Jeder Versuch bestand aus 10 Behandlungen mit 10 Wiederholungen pro Phytohormonbehandlung bei 'Shirobana' bzw. 20 bei 'Goldflame'. Erneut wurde jedes Explantat wie eine Wiederholung bewertet. Dem Kallusinduktionsmedium wurden folgende Phytohormone zugesetzt (Tabelle 3):

Tabelle 3: Konzentrationen und Kombinationen von 2,4-D und BAP für den Kallusinduktionsversuch an Blättern von *Spiraea bumalda* 'Shirobana' und 'Goldflame'. 1998-1999.

Zytokinin (mg/l)	Auxin (mg/l)				
	1	2	3	4	5
0,5	0,5:1	0,5:2	0,5:3	0,5:4	0,5:5
1	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5

Um eine Differenzierung des Kallus zu induzieren, wurden die Wirkung der Zytokinine BAP bzw. TDZ und der Auxine IES bzw. NAA jeweils geprüft. In jedem Versuch wurden 18 Behandlungen mit 6 Wiederholungen pro Phytohormonbehandlung durchgeführt. Wiederum galt jedes Explantat als eine Wiederholung (Tabelle 4).

Tabelle 4: Konzentrationen und Kombinationen der Zytokinine (BAP bzw. TDZ) und Auxine (IES bzw. NAA) zur Adventivsprossinduktion aus Kallus von *Spiraea bumalda* 'Shirobana' und 'Goldflame'. 1998.

Zytokinine (mg/l)	Auxine (mg/l)		
	0	0,1	0,3
0	0:0	0:0,1	0:0,3
0,5	0,5:0	0,5:0,1	0,5:0,3
1	1:0	1:0,1	1:0,3
1,5	1,5:0	1,5:0,1	1,5:0,3
2	2:0	2:0,1	2:0,3
5	5:0	5:0,1	5:0,3

Aufgrund positiver Ergebnisse mit NAA und TDZ wurden weitere Sprossinduktionsversuche bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana' bzw. 'Goldflame' durchgeführt (Tabelle 5). In jedem Versuch wurden 15 Behandlungen mit 22 Wiederholungen pro Phytohormonbehandlung bei 'Shirobana' bzw. 17 bei 'Goldflame' durchgeführt. Wiederum galt jedes Explantat als eine Wiederholung

Tabelle 5: Konzentrationen und Kombinationen von NAA und TDZ zur Sprossinduktion aus Kallus von *Spiraea bumalda* 'Shirobana' und 'Goldflame'. 1999 - 2000.

TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)		
	0	0,1	0,3
0	0:0	0:0,1	0:0,3
1	1:0	1:0,1	1:0,3
2	2:0	2:0,1	2:0,3
3	3:0	3:0,1	3:0,3
5	5:0	5:0,1	5:0,3

### **In-vitro-Kultur bei *Dendranthema grandiflorum***

Zum Zwecke des Mischzellennachweises bei *Dendranthema grandiflorum* wurde die Segregation mittels In-vitro-Versuche angestrebt. In den Direktregenerationsversuchen wurde das Nährmedium mit Wachstumsregulatoren nach XIAOHAN et al. (1995) ergänzt.

Ein erstes Experiment wurde mit dem Ziel der Bestimmung des besten NAA und AgNO<sub>3</sub> - Niveaus (bei 0,2 mg/l BAP) durchgeführt sowie zur Überprüfung der Musterbildung bei der In-vitro-Induktion von Adventivsprossen. (Tabelle 6). Nach der Entfernung aller Achselknospen wurden die Internodienstücke, die 50% Variegationen aufwiesen, auf MS Nährmedium mit verschiedenen Konzentrationen von Wachstumsregulatoren und AgNO<sub>3</sub> gesetzt.

Tabelle 6: Konzentration und Kombination von NAA und AgNO<sub>3</sub> zur Adventivspross-induktion aus Internodien von *Dendranthema grandiflorum*. 1999.

Zytokinin (mg/l)	AgNO <sub>3</sub> (mg/l)		
	0	1,7	3,4
0,5	0,5:0	0,5: 1,7	0,5: 3,4
1	1:0	1: 1,7	1:3,4
2	2:0	2: 1,7	2: 3,4

Aufgrund positiver Ergebnisse aus dem ersten Experiment und um eine mögliche Beziehung zwischen dem Explantattyp und der Konstitution der neuen Adventivsprosse zu finden, wurde ein zweites Experiment durchgeführt. Auch hier wurden nach der Entfernung aller Achselknospen nur Internodien, die 50% Variegationen oder die 95% Weißanteil aufwiesen, auf das MS Nährmedium mit 0,2 mg/l NAA und 1 mg/l BAP gesetzt.

### **In-vitro-Kultur bei *Syngonium podophyllum***

Als weiterer Beweis für die Mischzellenentmischung bei *Syngonium podophyllum* wurden verschiedene Regenerationsversuche in vitro durchgeführt. In den ersten Versuchen, bei denen Kallus oder Adventivsprosse aus aseptischen Blatt- und Internodienstücke induziert werden sollten, wurden die Wirkung und Interaktion von verschiedenen Konzentrationen von NAA und Kinetin bzw. 2,4-D und Kinetin geprüft. Jeder Versuch bestand aus 17 Varianten mit 7 Wiederholungen pro Phytohormonbehandlung. Jedes Explantat wurde wie eine Wiederholung bewertet. Die Phytohormonkonzentrationen und -kombinationen sind in Tabelle 7 und Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 7: Konzentrationen und Kombinationen von NAA bzw. 2,4-D und Kinetin für den Kallusinduktionsversuch an Blättern von *Syngonium podophyllum* 'Variegata' 1998-1999.

Zytokinin (mg/l)	Auxin (mg/l)				
	0	1	3	5	10
0	0:0	0:1	0:3	0:5	0:10
0,25	0,25:0	0,25:1	0,25:3	0,25:5	0,25:10
0,5	0,5:0	0,5:1	0,5:3	0,5:5	0,5:10

Aufgrund negativer Ergebnisse bei den ersten Versuchen wurde erneut eine Adventivsprossinduktion mit *Syngonium podophyllum* durchgeführt. Als Explantate wurden nach der Entfernung aller Achselknospen nur Internodien, die 50% Variegation aufwiesen oder die 100% weiß bzw. grün waren, auf das MS Nährmedium mit TDZ und AgNO<sub>3</sub> gesetzt. In diesem Versuch wurden 12 Behandlungen mit verschiedener Wiederholungsanzahl der Phytohormonbehandlung pro Internodientyp durchgeführt. (5 für variegata und 2 für weiße bzw. grüne Internodien). Wiederum galt jedes Explantat als eine Wiederholung. (Tabelle 8).

Tabelle 8: Konzentrationen und Kombinationen von TDZ und AgNO<sub>3</sub> mit 0,3 mg/l NAA für den Adventivsprossinduktionsversuch an Internodien von *Syngonium podophyllum* 'Variegata' 1999-2000.

AgNO <sub>3</sub> (mg/l)	TDZ (mg/l)			
	0	1	2	5
0	0:0	0:1	0:2	0:5
1,7	1,7:0	1,7:1	1,7:2	1,7:5
3,4	3,4:0	3,4:1	3,4:2	3,4:5

### 2.2.2 Doppelte Markierung

Um Sprossvariationen in Blatt- bzw. Blütenfarbe auf Chimärenentmischung zurückführen zu können, wurden verschiedene Kolchizinierungsversuche zur Induktion von Ploidiechimären bei beiden *Spiraea*-Sorten durchgeführt. So können einzelne Schichten zusätzlich neben der Farbmarkierung im Sprossscheitel mit unterschiedlichen Ploidiestufen markiert werden.

Um eine doppelte Markierung bei *Spiraea bumalda* zu erreichen, wurden vier verschiedene Kolchizinbehandlungsmethoden benutzt. Für alle Methoden wurden 0,1 oder 0,2 %ige Kolchizinlösungen verwendet (OLBRICHT, 1998).

### **Auflegen von mit Kolchizin getränkter Watte auf die Achselknospen**

Bei dieser Methode wurde ein mit Kolchizin getränkter Wattebausch auf die Achselknospen aufgelegt und für 24 Stunden dort belassen.

### **Veränderung der Methode des Auflegens von mit Kolchizin getränkter Watte auf die Achselknospen**

Die Apikalmeristeme von den verschiedenen Sprossen wurden abgeschnitten, um die Apikaldominanz zu hemmen und das Wachstum von Axillarknospen zu fördern. Auf die Achselknospen wurde mit Kolchizin getränkte Watte aufgelegt und für 48 Stunden dort belassen.

### **Spritzmethode**

Wieder wurden die Apikalmeristeme der Sprosse entfernt. Dann wurde mittels einer Spritze Kolchizin in die Achselknospen appliziert und zusätzlich mit Kolchizin getränkte Watte aufgelegt (48 Stunden).

### **Infiltrationsmethode**

Die Apikalmeristeme von Stecklingen von *Spiraea*, die bis ca. 3 cm lang waren und Wurzeln ausgebildet hatten, wurden in Kolchizinlösung eingetaucht und anschließend mit Hilfe einer Pumpe eine Minute mit der Lösung infiltriert.

### 2.2.3 Herstellung von Frischpräparaten

Zur Analyse der Merkmale der verschiedenen Blattmuster an den ausgewählten Objekten wurden Querschnittspräparate von Laubblättern angefertigt. Für die Anfertigung der Querschnitte wurden Ausschnitte aus frischem Blattmaterial in Holundermark, Gurken- oder Zucchinistücke geklemmt und mit einer Rasierklinge Schnitte von Hand ausgeführt. Nach dem Schneiden wurden die Präparate mittels einer Wasserstrahlpumpe entlüftet. Die Untersuchungen von Epidermis und Stomata (zur indirekten Bestimmung des Ploidiegrades oder der Bestimmung des Chlorophyllgehaltes) erfolgten an Epidermisabzügen der Blattunterseite. Die Entlüftung der Epidermisabzüge war bei diesen Präparaten ebenfalls notwendig. Messungen der Stomata erfolgten mittels Okularmikrometer.

Um die Ploidiestufe und Farbstoffverteilung im Blütenblatt zu bestimmen, wurden ganze Blüten mit 10%iger  $\text{KNO}_3$ -Lösung entlüftet und von den Petalen Querschnitte und Epidermisabzüge angefertigt.

### 2.2.4 Herstellung von Dauerpräparaten

Für histologische Untersuchungen wurden Sprossspitzen und Blätter in Paraffin und Kunststoff eingebettet. Prinzipiell sind beide Methoden erfolgversprechend. Zur besseren Übersicht sind die verwendeten Präparierungsmethoden nachfolgend in Tabellenform vergleichend dargestellt (Tabelle 9).

Die Präparate wurden mit 5 bis 8  $\mu\text{m}$  Schnittdicke an einem Mikrotom der Marke Leica RM 2155 geschnitten. Alle in Paraffin eingebetteten Präparate wurden mit Hämalaun und Eosin angefärbt und unter Verwendung von Kanadabalsam und Deckgläsern eingedeckelt. In Kunststoff eingebettete Präparate wurden mit Toluidinblau oder Hämatoxylin (nach Delafield) gefärbt und mit PDX Montant for histology eingedeckelt.

Tabelle 9: Einbettungsverfahren zur Herstellung von Dauerpräparaten

Arbeitsschritt	Einbettungsverfahren			
	Kunststoff	Stunden	Paraffin	Stunden
Fixierlösung/ Entlüften	Carnoy*	24	Carnoy*	48
Entwässerung	Ethylenglycolmonoethylen	24	70% Alkohol	48
	96% Alkohol	24	96% Alkohol	48
	Propanol	24	Propanol	48
	Butanol	24	Propanol/Eosin (1:1)	48
			Xylol	48
Einbetten	Vorbereitungslösung (VL = 100 ml Technovit 7100 + 1g Härter I)	24	Xylol/Paraffin (1:1) 60° C	48
	20 ml VL+ 2 ml Härter II (Polymerisation)	24	Xylol/Paraffin (1:1)	48
			Verdunsten lassen  Neues Paraffin in Formen eingießen, Präparate einbetten	
Einblocken	Trägerblöcke befestigen Technovit 3040 (Lösung und Pulver)	1		
*6 Teile: 96% Alkohol; 1 Teil: Eisessig; 3 Teile: Chloroform				

#### 2.2.5 Lichtmikroskopische Betrachtung und Dokumentation

Die Untersuchungen an Dauer- und Frischpräparaten wurden an den Durchlichtmikroskopen JENAVAL-contrast und LABOVAL-2 durchgeführt. Ergebnisse wurden mit dem mikrofotografischen Aufsetzkamerasystem mf-AKS und Kleinbildfilmen der Marke Agfa dokumentiert. Fotoaufnahmen der Pflanzen bzw. Pflanzenteile entstanden mit Apparaten der Marke Praktica unter Verwendung von Kleinbildfilmen der Marke Agfa.



### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Blattmuster mit unregelmäßiger makulater Musterung

##### 3.1.1 Araceae

##### 3.1.1.1 Mikroskopische Untersuchungen an *Syngonium podophyllum* 'Variegata'

Untersuchungen an Blattquerschnitten von *Syngonium podophyllum* 'Variegata' zeigten eine einschichtige untere und obere Epidermis. An die untere Epidermis schließen sich 3 bis 5 Schwammparenchymschichten und eine Palisadenparenchymschicht an (Abbildung 11).

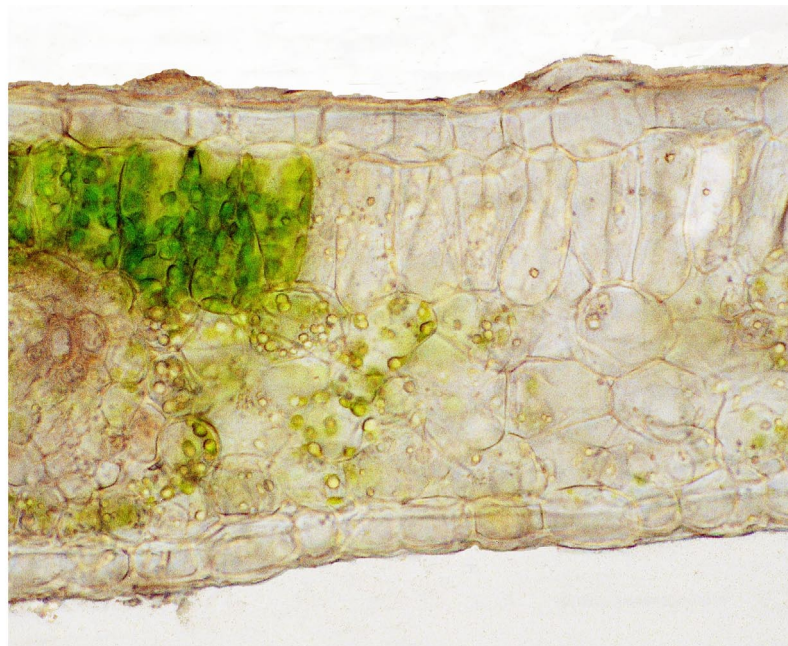


Abbildung 11: Querschnitt durch ein Blatt von *Syngonium podophyllum*. Im Mesophyll befinden sich Zellen mit grünen oder mutierten Plastiden.

##### 3.1.1.1.1 Mischzellennachweise bei *Syngonium podophyllum* 'Variegata'

Im Mesophyll der älteren Blätter sind nur Zellen mit normalen oder ohne Chloroplasten zu finden. Bei diesen Blättern ist der Nachweis von Mischzellen sehr schwierig zu erbringen, da die weißen Plastiden im Blatt keine korpuskuläre Struktur mehr besitzen und deshalb nicht zweifelsfrei gemeinsam mit grünen Plastiden in der gleichen Zelle gefunden werden können. Ausgehend von den vorhergehenden Beobachtungen wurden besonders feingescheckte, junge Blattbereiche untersucht, da an solchen Stellen die Wahrscheinlichkeit am

größten ist, mutierte, nicht zerfallene Plastiden neben grünen Plastiden in einer Zelle zu finden. In diesen Blattbereichen konnten Mischzellen nachgewiesen werden (Abbildung 12). In der Regel sind die Zellen jedoch schon entmischt und man kann Zellen mit großen, normalen, grünen Chloroplasten oder mit kleineren, mutierten Chloroplasten finden.

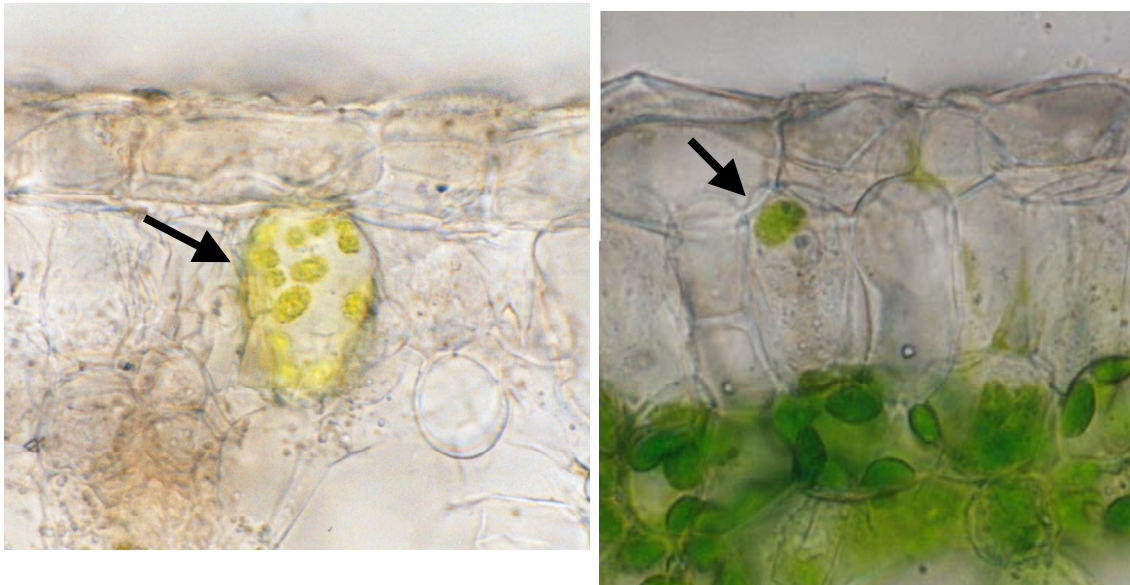


Abbildung 12: Mischzellen im Gewebe von variegatem *Syngonium podophyllum*. links: In den Zellen des Palisadenparenchyms befinden sich mutierte und unmutierte Plastiden, rechts: Die Zelle des Palisadenparenchyms enthält zerfallene mutierte Plastiden und eine unmutierte Plastide.

#### 3.1.1.2 Spontane Entmischung bei *Syngonium podophyllum* 'Variegata'

Als Ausgangsmaterial für die spontanen Entmischungsversuche bei *Syngonium podophyllum* wurden Stecklinge von Pflanzen entnommen, die einen Blattbereich mit feinem Grün-Weiß-Mosaik besaßen. Jeder Steckling bestand aus einem Sprossteilstück mit einem Blatt und einer Achselknospe. Das Ausgangsmaterial wurde zurückgeschnitten als die Pflanzen 8 Internodien hatten, um den Austrieb der Seitensprosse zu induzieren und gleichzeitig Material für die Vermehrung der Klone zu gewinnen (Tabelle 10).

Tabelle 10: Ergebnisse der Vermehrung der Klone von *Syngonium podophyllum* 'Variegata'

	Pflanzen gesamt	Internodien gesamt	Blätter gesamt	Internodien/ Pflanze	Blätter/ Pflanze
Ausgangsklone	9	78	80	8,7	8,9
Wachstum von Seitensprossen an Ausgangsklonen	14	224	222	16	15,9
Vermehrung der Ausgangsklone	44	565	564	12,8	12,8
Gesamt	67	867	866	12,5	12,5

Es wurde keine Weißrand- bzw. Weißkernform von *Syngonium podophyllum* gefunden. Nach der Vermehrung der bunten Formen dieser Pflanze traten immer nur Formen mit entweder weißen oder grünen Blättern auf (Tabelle 11) oder der makulate Typ blieb erhalten. Blattquerschnitte zeigten, dass im Bereich des Mesophylls die einzig möglichen stabilen Erscheinungsformen grün oder weiß sind. Epidermisabzüge sowohl bei grünen Klonen als auch bei weißen Sprossen an den Entmischungspflanzen belegen, dass Chlorophyll in der Epidermis ausschließlich in den Stomatoplastiden gebildet wird (Abbildung 13).

Tabelle 11: Entwicklung des Blattmusters während des Pflanzenwachstums von *Syngonium podophyllum* 'Variegata'.

Ausgangsmuster	Endmuster	Anzahl der Pflanzen	Anfang der Entmischung (Internodium/Blatt)
Variegat	Variegat	52	Keine
Variegat	Grün	7	Keine
Variegat	Grün	6	9 – 20
Variegat	Weiß	2	7 – 21
Gesamt		67	

Auf Grund der bisherigen Ergebnisse ist für die makulaten Sprosse der Scheitelaufbau L1 grün, L2 makulat (GM) und für Sprosse mit Sektormuster der meriklinalchimärische Aufbau L1 grün und L2 entweder grün, weiß oder makulat (GG/W/M) anzunehmen.



Phänotypisch weiße Sprosse sind entsprechend Periklinalchimären mit der Scheitel-schichtung L1 grün und L2 weiß (GW). Bei den homohistisch grünen Sprossen sind L1 und L2 grün.

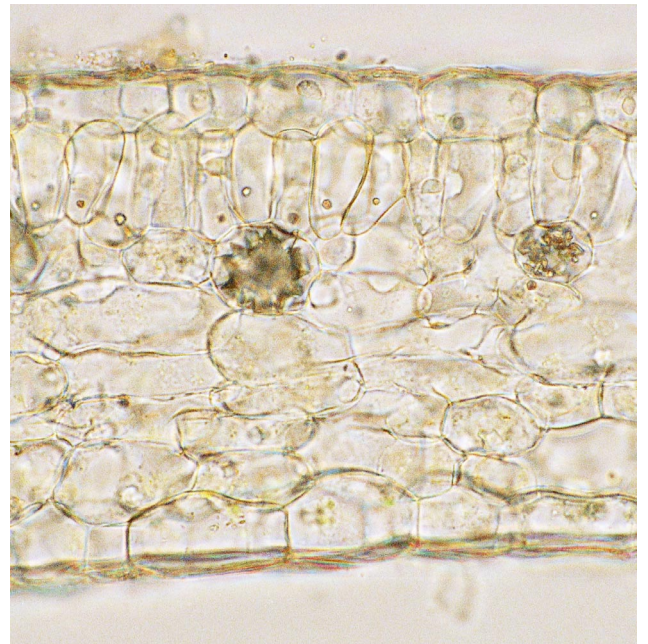
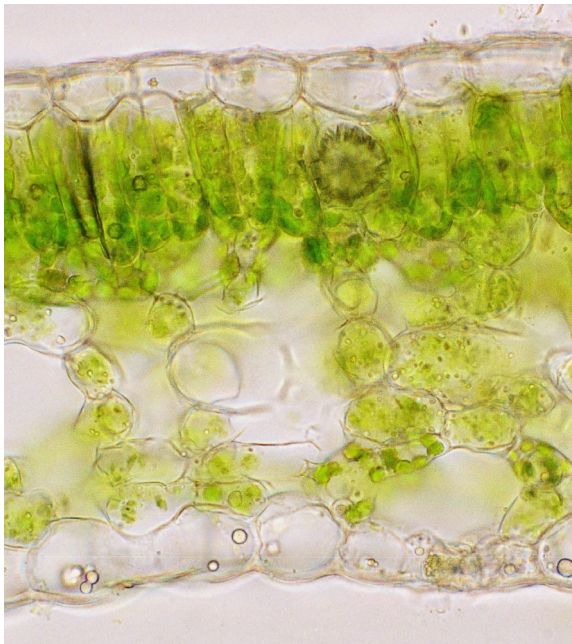


Abbildung 13: *Syngonium podophyllum*, oben: Epidermisabzug. Schließzellen enthalten normale, grüne Plastiden. unten: Querschnitt durch Blätter, links: homohistisch grüne Pflanze, rechts: Chimäre der Konstitution GW.

#### 3.1.1.2.1 Beteiligung der Epidermis bei der Mesophyllbildung

An der Spreitenbasis und an den Nebenblättern bei entmischten weißen Sprossen sind kleine grüne Randbereiche zu beobachten. Diese Blätter zeigen normal grüne Schließzellen in der Epidermis. Die Befunde deuten darauf hin, dass eine grüne L1 eine weiße L2 überzieht (Abbildung 14). Da kein Weißrandblatt beobachtet werden konnte, ist darauf zu schließen, dass L2 fast ausschließlich (bis auf eine geringe L1-Beteiligung) das Mesophyll des Blattes bildet.

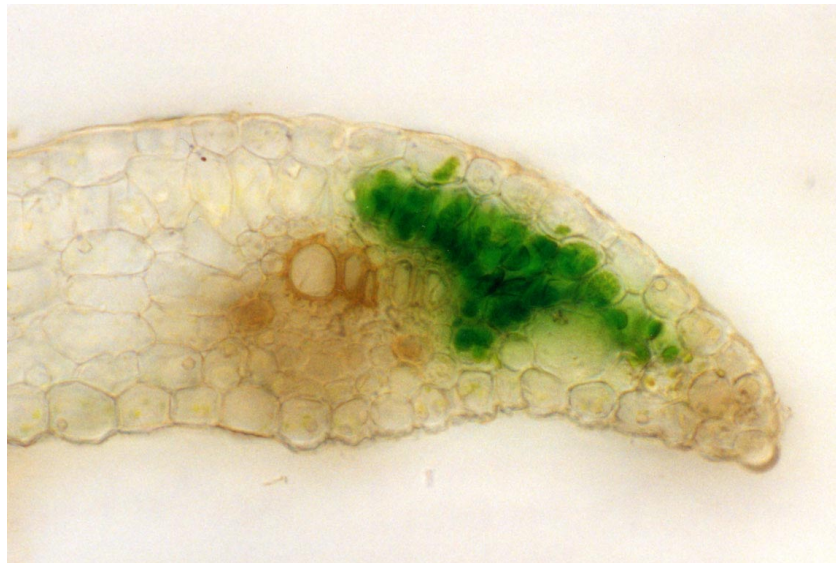


Abbildung 14: *Syngonium podophyllum*: Querschnitt durch einen grünen Randbereich

#### 3.1.1.2.2 Stabilität nach Plastidenentmischung

Zur Überprüfung der Stabilität nach Plastidenentmischung wurden Klone von sechs unabhängig voneinander entstandenen grünen Sprossen angelegt und davon vier weiter vermehrt. Alle Ausgangsklone und alle daraus hervorgegangenen Klone sind grün geblieben. Die neu ausgetriebenen Seitensprosse der Ausgangsklone waren ebenfalls grün (Tabelle 12).

Tabelle 12: Ergebnisübersicht der Überprüfung der Stabilität von *Syngonium podophyllum* mit einheitlich grünen Blättern.

	Pflanzen gesamt	Internodien gesamt	Blätter gesamt	Internodien /Pflanze oder Trieb	Blätter/ Pflanze oder Trieb
Ausgangsklone	6	80	79	13,3	13,1
Wachstum von Seitensprossen an Ausgangsklonen	12	177	170	14,75	14,16
Vermehrung der Ausgangsklone	36	284	284	7,9	7,9
Gesamt	54	541	533	10,0	9,9

Auf Grund der Tatsache, dass es bei *Syngonium* überhaupt keine Blüte gab, war es nicht möglich, die Selbstungsmethode von variegaten Pflanzen anzuwenden, um zu einem indirekten Beweis für die Existenz von Mischzellen zu kommen.

#### 3.1.1.3 In-vitro-Kultur von *Syngonium podophyllum* ‘Variegata’

Eine In-vitro-Kallusbildung aus Blättern konnte bei *Syngonium podophyllum* nicht erreicht werden, doch ließen sich Sprossspitzen über einen gewissen Zeitraum kultivieren. Bessere Ergebnisse wurden mit Internodienstücken erreicht, obwohl die Kallus- und Sprossbildung aus Parenchymzellen bei Monokotylen besonders schwierig zu induzieren ist. In der Tabelle 13 wurden die Ergebnisse der Induktionsversuche der verschiedenen Explantate zusammengefasst, um die Wirkung von TDZ und AgNO<sub>3</sub> bei der Adventivsprossbildung ablesen zu können (Abbildung 15).

Tabelle 13: Ergebnisse der Sprossinduktion bei *Syngonium podophyllum* ‘Variegata’

Phytohormone		Sprossanzahl
TDZ (mg/l)	AgNO <sub>3</sub> (mg/l)	
0	0	0
0	1,7	0
0	3,4	0
1	0	0
1	1,7	1
1	3,4	0
2	0	2
2	1,7	0
2	3,4	0
5	0	4
5	1,7	2
5	3,4	3
Insgesamt		11

Aufgrund der geringen Anzahl von Adventivsprossen aus Internodienstücken bei *Syngonium podophyllum* ist es nicht möglich, eine eindeutige Schlussfolgerung der Wirkung von TDZ und AgNO<sub>3</sub> zur Adventivsprossinduktion zu ziehen. Die Tendenz zeigt jedoch, dass bei einer Konzentration von 5 mg/l TDZ in weiteren Versuchen eine größere Anzahl von Adventivsprossen zu erwarten wäre.

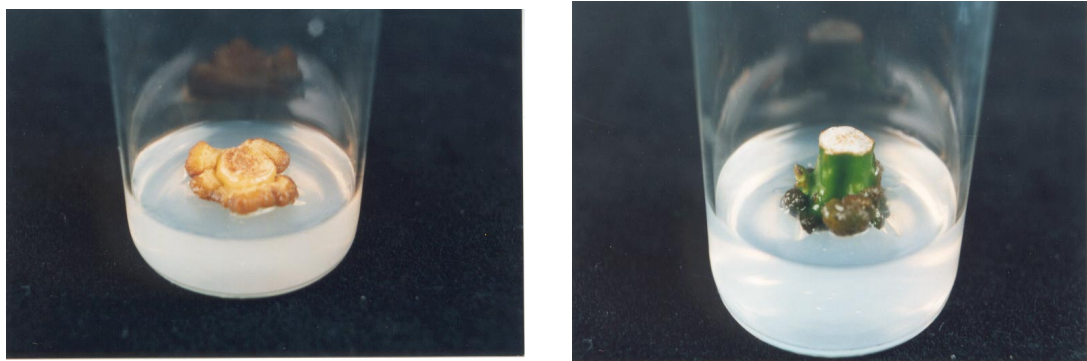


Abbildung 15: *Syngonium podophyllum*: links: Kallusinduktion, rechts: Adventivsprossinduktion.



Insgesamt waren von den 11 neuen Adventivsprossen 6 grün und 5 weiß. Es wurde eine deutliche Beziehung zwischen dem Explantattyp und der Konstitution der neuen Adventivsprosse gefunden. Bei den grünen Explantaten entwickelten sich drei völlig grüne Adventivsprosse, dagegen wurde bei den weißen Explantaten keine Regeneration erzielt. Aus dem Pflanzenmaterial, das 50% Variegation aufwies, entwickelten sich von drei unabhängigen Explantaten drei grüne und fünf weiße Adventivsprosse (Tabelle 14, Abbildung 16).

Mit diesen Ergebnissen konnte das Vorhandensein von Mischzellen in den Ursprungspflanzen nicht bestätigt werden, aber dieser Befund kann als Beweis für eine Entmischung der Chimäre zum Homohistonanten gelten.

Tabelle 14: Vergleich der Musterung von Explantat und Regenerat nach Sprossinduktion bei *Syngonium podophyllum* 'Variegata'

Phänotyp der Explantate	Sprosse gesamt	Grüne Sprosse	Variegate Sprosse	Weiß Sprosse
50 % variegat	8	3	0	5
Grün	3	3	0	0
Weiß	0	0	0	0
Insgesamt	11	6	0	5



Abbildung 16: Adventivsprosse nach Internodienkultur bei *Syngonium podophyllum*. links: weißer, entwickelter Adventivspross aus einem Explantat mit 50 % Variegation, rechts: grüner, entwickelter Adventivspross aus einem Explantat mit 50 % Variegation.



#### 3.1.1.4 Mikroskopische Untersuchungen an *Monstera deliciosa* ‘Variegata’

Untersuchungen an Blattquerschnitten von *Monstera deliciosa* ‘Variegata’ zeigten einschichtige untere und obere Epidermen. An die untere Epidermis schließen sich 7 bis 9 Schwammparenchymschichten und eine Palisadenparenchymschicht an (Abbildung 17).

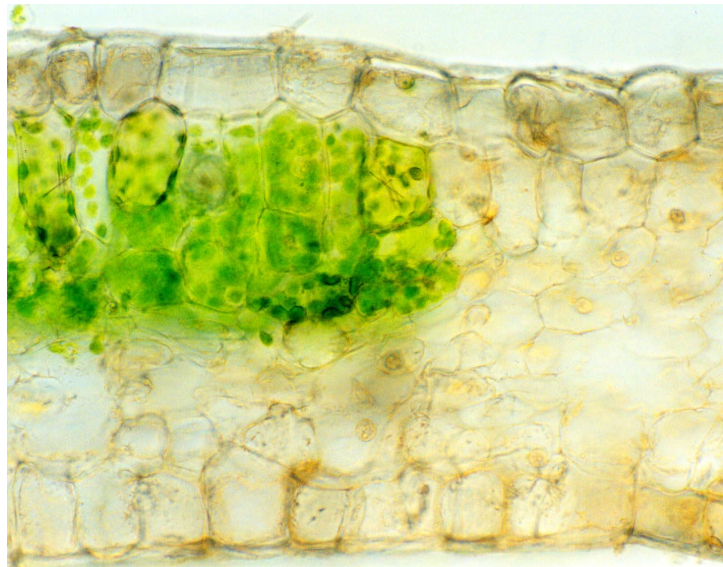


Abbildung 17: Querschnitt durch ein Blatt von *Monstera deliciosa*. Im Mesophyll befinden sich Zellen mit grünen oder mutierten Plastiden

##### 3.1.1.4.1 Mischzellennachweise bei *Monstera deliciosa* ‘Variegata’

Auch bei *Monstera deliciosa* ‘Variegata’ wurde davon ausgegangen, dass sich Mischzellen in fein gestreiften jungen Blattbereichen befinden. Dort konnten Mischzellen nachgewiesen werden. In der Regel sind die Zellen jedoch schon entmischt und man kann Zellen entweder mit großen, normalen grünen Chloroplasten oder mit kleineren, mutierten weißen Chloroplasten finden (Abbildung 18).

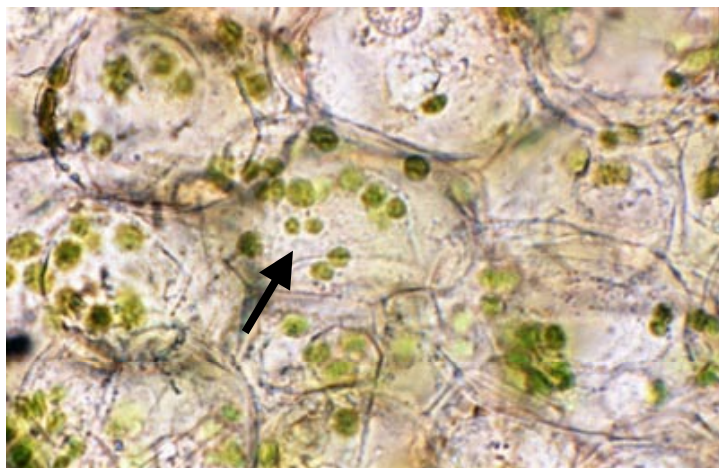


Abbildung 18: Mischzellen im Gewebe von variegaten *Monstera deliciosa*: In den Zellen des Schwammparenchyms befinden sich mutierte und unmutierte Plastiden

#### 3.1.1.5 Spontane Entmischung bei *Monstera deliciosa* ‘Variegata’

*Monstera deliciosa* ‘Variegata’ weist ein Entmischungsverhalten auf, wie es bei *Syngonium podophyllum* vorgefunden wurde. Die Pflanzen wachsen langsamer als *Syngonium* und möglicherweise geht deshalb auch die Entmischung sehr langsam vor sich. In den untersuchten Pflanzen traten phänotypisch weiße Sprosse auf. Die Schließzellen enthalten in jedem Fall Chloroplasten. Diese phänotypisch weißen Sprosse stellen die eigentlichen Periklinalchimären der Konstitution GW dar. Bei *Monstera deliciosa* wurde ebenfalls keine Weißrand- bzw. Weißkernform gefunden (Tabelle 15 und Tabelle 16). Das bedeutet, dass das Mesophyll fast ausschließlich von L2 gebildet wird.

Tabelle 15: Ergebnisse der Entwicklung variegater Klonen von *Monstera deliciosa*

	Pflanzen gesamt	Internodien gesamt	Blätter gesamt	Internodien /Pflanze	Blätter/ Pflanze
Gesamt	9	168	167	18,7	18,6

Tabelle 16: Entwicklung des Blattmusters während des Wachstums der Pflanzen von *Monstera deliciosa*

Ausgangsmusterung	Endmusterung	Anzahl der Pflanzen	Anfang der Entmischung (Internodium/Blatt)
variegat	variegat	5	keine
sektorial	sektorial	3	keine
variegat	weiß	1	14
variegat	grün	0	keine
gesamt		9	

### 3.1.1.6 Untersuchungen von Sprossscheiteln und Achselknospen an *Syngonium podophyllum* und *Monstera deliciosa*

Die Musteranalysen auf morphologischer und anatomischer Ebene an variegaten Pflanzen von *Syngonium podophyllum* und *Monstera deliciosa* haben gezeigt, dass im Sprossscheitel und in Achselknospen zwei Schichten unabhängig voneinander existieren und in das Blatt eingehen.

Bei histologischen Untersuchungen (Tabelle 17) waren von 13 Längsschnittserien durch 7 Sprossscheitel und 6 Achselknospen von *Syngonium podophyllum* und durch 3 Sprossscheitel von *Monstera deliciosa* der mediane Längsschnitt durch den Scheitel eindeutig identifizier- und auswertbar. In den Randbereichen der Sprossscheitel ist die antikline Struktur der L2 nicht mehr aufzufinden, weshalb sie an dieser Stelle zum Korpus gerechnet werden und zwangsläufig von einem zweischichtigen Scheitelaufbau ausgegangen werden muss (Abbildung 19).

Tabelle 17: Scheiteluntersuchungen zum Nachweis der Anzahl der Scheitelschichten bei *Syngonium podophyllum* und *Monstera deliciosa*

	Sprossscheitel Anzahl	Achselknospen Anzahl	Schichten Anzahl
<i>Syngonium podophyllum</i> 'Variegata'	7	6	2
<i>Monstera deliciosa</i> 'Variegata'	3	0	2

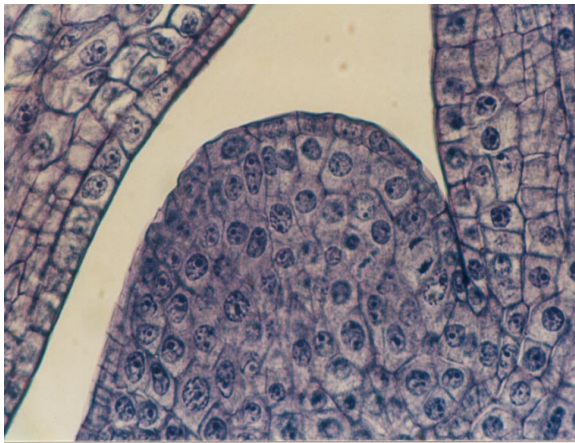


Abbildung 19: Längsschnitt durch Sprossspitze von *Syngonium podophyllum* (links) und eine Achselknospe von *Monstera deliciosa* (rechts). Kunststoff-Dauerpräparate, Hämatoxylin-Färbung nach Delafield.

### 3.1.2 *Asteraceae*

#### 3.1.2.1 Mikroskopische Untersuchungen an *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'

Untersuchungen an Blattquerschnitten von 'Pirol' zeigten folgenden Aufbau: Eine einschichtige untere und obere Epidermis. An die untere Epidermis schließen sich 3 bis 4 Schwammparenchymschichten und eine Palisadenparenchymschicht an.

In den verschiedenen Serien von Längsschnitten an variegaten Blättern von Chrysanthemen konnte man eine ungleichmäßige Verteilung der verschiedenen Zellgruppen beobachten, die im Mesophyll Chlorophyll bilden oder auch nicht (Abbildung 20). Um festzustellen, ob dieses Muster das Ergebnis eines Prozesses der Entmischung von Mischzellen war, wurde eine weitere Analyse an einer Vielzahl von Frischschnitten nötig.



Abbildung 20: Querschnitt durch ein Blatt von *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'. Im Mesophyll befinden sich Zellen mit grünen und mutierten Plastiden.

##### 3.1.2.1.1 Mischzellennachweise bei *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'

Bei jungen makulaten Blättern konnten in feingescheckten Bereichen Mischzellen nachgewiesen werden. Unterschiedliche Plastiden-Typen ließen sich in jungen Blättern gut voneinander unterscheiden. Die normalen grünen Chloroplasten waren groß, die mutierten



Chloroplasten dagegen kleiner und heller (Abbildung 21). Noch im dritten entwickelten Blatt war es möglich, mutierte Chloroplasten zu erkennen. Jedoch in älteren Blättern wurden nur Zellen mit grünen Plastiden bzw. mit Plastiden ohne Chlorophyll beobachtet und keine Mischzellen gefunden.

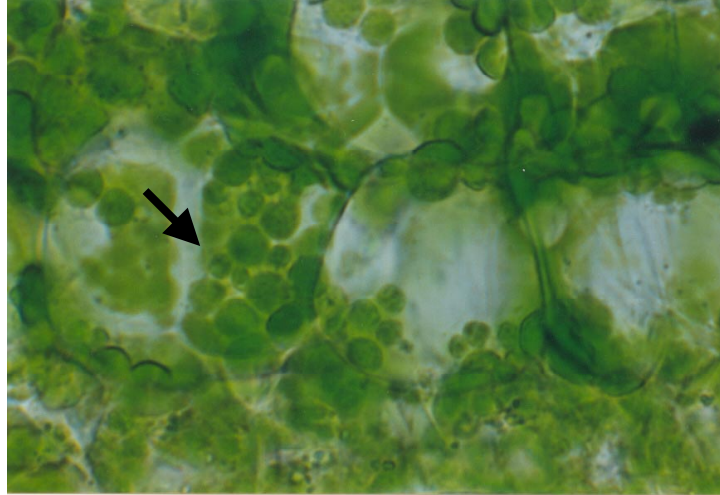


Abbildung 21: Mischzellen bei *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'. Große, unmutierte Chloroplasten und kleinere, mutierte Chloroplasten sind im Mesophyll zu erkennen.

#### 3.1.2.2 Anordnung der Zelltypen in genetisch heterogenen Trieben

##### 3.1.2.2.1 Selbstungen bei *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'

Obschon eine Identifikation von Mischzellen gelang, traten diese Zellen nicht mit großer Häufigkeit auf. Für eine genauere Bestimmung war die Nutzung von Selbstungen von Pflanzen nötig, die verschiedene Grade von Variegationen im Blattwerk aufwiesen. Anhand dieser Methode ließ sich auf indirekte Weise die Konstitution der zweiten Schicht der Sprossspitze bestimmen.

Auf Grund der Schwierigkeit, Selbstungen an Einzelblüten (Röhrenblüten) bei Chrysanthemen vorzunehmen, erwies es sich als günstig, alle Köpfchen der Doldenrispe jener Zweige einzutüten, die Panaschierungen im Blattwerk aufwiesen. Obwohl eine große Anzahl der Doldenrispen sich selbst bestäubte, kam es nur zu einem geringen Samenansatz (Tabelle 18).

Tabelle 18: Ergebnisse der Selbstungen von *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'

Anzahl der geselbsteten Doldenrispen	Köpfchen	Köpfchen mit Samen	Röhrenblüten mit Samen	Gekeimte Samen	Sämlinge gesamt
94	467	79	164	150	129

Die Nachkommen der variegaten geselbsteten Sprosse wiesen Mischzellen auf. Insgesamt besaßen 57,36% der Sämlinge irgendeine Art von Variegation im Blatt, 34,11% waren völlig grün und 8,53% gänzlich Albinos (Tabelle 19). Die Albinopflanzen konnten im Unterschied zu den panaschierten und den grünen Pflanzen nur die Keimblätter ausbilden und starben danach ab (Abbildung 22).

Tabelle 19: Übersicht der Musterungen von Sämlingen aus Selbstungen an makulaten Pflanzen von *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'.

		Phänotyp der Sämlingen		
Anzahl der Sämlinge	Gesamt	Variegat	Grün	Weiß
Absolut	129	74	44	11
Prozentual	100%	57,36%	34,11%	8,53%

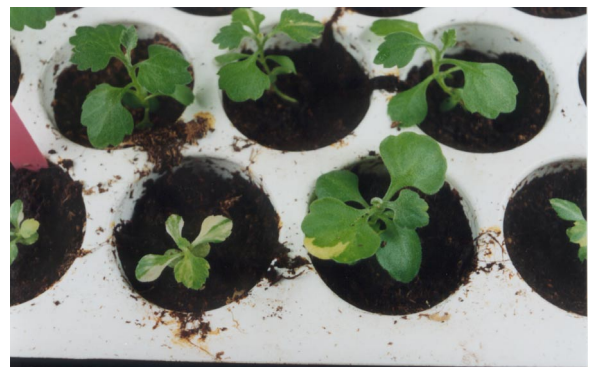


Abbildung 22: Sämlinge nach Selbstungen von *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'. links: eine Albinopflanze, die nur die Keimblätter ausbildet, rechts: panaschierte und grüne Sämlinge.

Es wurde ein bestimmter Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Variegation in den Blättern der geselbsteten Triebe und dem Typ der erlangten Nachkommenschaft beobachtet. Pflanzen mit einem hohen Prozentsatz an weißem Gewebe ergaben

Nachkommen mit einem sehr hohen Weißanteil im Blattmuster oder auch vollständige Albinos. Mutterpflanzen mit einem geringen Anteil von weißem Gewebe im Mesophyll führten zu Sämlingen mit ebenfalls geringem Weißanteil (Tabelle 20).

Tabelle 20: Variationsvergleich von Mutter- und Nachkommenschaftspflanzen von *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'

Klon	Weißanteil der letzten Blätter vor der Doldenrispe (%)	Pflanzen insgesamt	Phänotyp der Nachkommen *
42-B1	9	1	G
10-A1-A2	10	10	15, 20, 25, 50, 50, 70, 80, 95, 2 G
43-B1	10	2	G
04-A1	20	2	75, G
07-A1-A2-A3	20	9	30, 80, 7 G
14-B1-B2-B3-B4-B5	20	7	20, 4 G, 2 W
08-B1	29	2	40, W
26-B1	30	2	70, 85
05-A1	33	1	W
15-A2-A3-A4	33	5	10, 20, 60, 80, G
06-B2	35	1	95
18-B1	35	4	80, 95, W, G
09-A1-A2-A3	37	7	20, 25, 40, 4 G
01-A1	38	6	20, 70, 70, 80, 2 G
09-B1	43	2	G, W
03-A2	50	3	50, 70, G
41-B1	50	3	50, G, W
28-B1	85	1	W

\* Phänotyp der Nachkommen: G = grün, W = Weiß, Zahl = Weißanteil der Blätter in %  
 Im gleichen Versuch gab es jedoch auch andere Teilergebnisse. Nachkommen des Klons 10-A1-A2 (mit 15, 20, 25, 50, 50, 70, 80, 95% Variegation und Grün) zeigten ein Muster, das nicht in Verbindung mit dem Prozentsatz der Panaschierung der Mutterpflanzen stand. Diese Resultate werden mit dem Vorhandensein von Mischzellen in L2-bürtigem Gewebe und damit in den Gameten erklärt.



Um die Selbstungen vergleichen und überprüfen zu können, wurden Doldenrispen von völlig grünen Sprossen (GG), von periklinalen Chimären (GW) und Sprossen, die zu 90% Weiß im Blattwerk aufwiesen (GM), verwendet. (Tabelle 21).

Tabelle 21: Ergebnisse der Selbstungen variegater, weißer und grüner Triebe von *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'.

Blattmuster der Mutterpflanze	Anzahl der Doldenrispen	Köpfchen	Köpfchen mit Samen	Röhrenblüten mit Samen	Gekeimte Samen	Sämlinge gesamt	Blattmuster der Keimlinge
Weiß	14	35	5	26	26	0	Weiß
Grün	31	200	17	114	112	111	Grün
90% Weiß	1	3	1	12	12	0	Weiß

Bei keinem der Keimlinge, die aus der Selbstung von Trieben der nach den Musteranalysen als GG, GW oder GM charakterisierten Formen stammten, wurde irgendein Typ von Panaschierung beobachtet, der auf das Vorhandensein von Mischzellen hinwies. Alle Keimlinge waren in Übereinstimmung mit der Konstitution der L2-bürtigen Gewebe grün bzw. vollständige Albinos (Tabelle 21).

Im weiteren Verlauf der Pflanzenentwicklung wurde beobachtet, dass die Sämlinge GG grün blieben. Jedoch die Nachkommen der Triebe GW oder GM verhielten sich wie die weißen Sämlinge, die von panaschierten Zweigen abstammten. Sie keimten, bildeten Keimblätter aus und starben ab.

#### 3.1.2.2.2 Konkurrenz während des Wachstums der Sämlinge

Während des Wachstums der Sämlinge gab es eine Veränderung hinsichtlich der Position der apikalen Zellen im Sprossscheitel. Von den 74 Sämlingen, die Panaschierungen aufwiesen, zeigten 51 auch weiterhin eine Panaschierung, ohne zu einer Stabilisierung der zweiten Schicht des Sprossscheitels zu gelangen. 12 der 74 Sämlinge stabilisierten sich in den frühen Entwicklungsstadien zu GG-Homohistonten. Nur bei vier von allen wurde in der zweiten Sprossscheitelschicht eine Stabilisierung zum Albino beobachtet, aber im Unterschied zum grünen Homohistoten erfolgte die andauernde Stabilisierung erst in späten Entwicklungsstadien der Pflanze (ab dem sechsten Blatt).

An 5 Pflanzen, die als Homohistonten GG charakterisiert wurden, traten nach einem normalen Wachstum der Pflanzen panaschierte Blätter auf. Danach wuchsen vier dieser Pflanzen normal weiter, ohne dem Muster der Panaschierung zu folgen. Bei allen analysierten Pflanzen stabilisierte sich die Epidermis zur Konstitution grün mit chlorophyllhaltigen Zellen (Tabelle 22).

Tabelle 22: Entwicklung des Blattmusters während des Pflanzenwachstums der Sämlinge von *Dendranthema grandiflorum* ‘Pirol’

Ausgangsmusterung	Endmusterung	Anzahl der Pflanzen	Anfang der Entmischung (Laubblattstadium)
Variegat	Variegat	51	Keine
Variegat	Grün	12	2 – 8
Variegat	Weiß	4	6 – 8
Variegat	Variegat	1	(3 W) zu weiß *
Variegat	Variegat	1	(4 G) zu grün *
Grün	Grün	4	Keine
Grün	Variegat	1	11

\* momentan

### 3.1.2.3 In-vitro-Entmischung von *Dendranthema grandiflorum* ‘Pirol’

#### 3.1.2.3.1 Ursprung von Adventivsprossen

Bei der Mehrzahl der Kombinationen von Wachstumsregulatoren und AgNO<sub>3</sub> kam es zur Bildung von Adventivsprossen aus Internodienstücken mit 50% Variegationen, aber auch ohne den Zusatz von AgNO<sub>3</sub> wurde eine gute Adventivsprossbildung erreicht. Beste Ergebnisse sowohl bei der Anzahl von induzierten Explantaten als auch bei der Anzahl der Adventivsprosse pro Explantat resultieren aus der Variante 0,2 mg/l NAA, 1 mg/l BAP ohne AgNO<sub>3</sub> und der Variante 0,2 mg/l NAA, 1 mg/ BAP, 3,4 mg/l AgNO<sub>3</sub>.

Tabelle 23: Ergebnisse der Adventivsprossinduktion bei *Dendranthema grandiflorum* ‘Pirol’

Phytohormone (mg/l)			Explantate mit Adventivsprossinduktion (%) *	Durchschnittliche Anzahl der Adventivsprosse pro Explantat
NAA	BAP	AgNO <sub>3</sub>		
0,2	0,5	0	42,86	6,00
0,2	1	0	42,86	8,83
0,2	2	0	7,14	10,00
0,2	0,5	1,7	35,71	4,80
0,2	1	1,7	14,29	3,00
0,2	2	1,7	35,71	4,80
0,2	0,5	3,4	14,29	2,00
0,2	1	3,4	35,71	8,00
0,2	2	3,4	14,29	5,00

\* 14 Wiederholungen/Behandlung

Es wurde beobachtet, dass die Sprosse sich am inneren Teil der Schnittfläche der Internodien und nicht an den Rändern bildeten. Deshalb wird die Möglichkeit, dass die Epidermis an der Ausbildung von neuen Sprossen beteiligt sein könnte, ausgeschlossen. Insgesamt waren von den 207 neuen Adventivsprossen 19,8 % variegat, 68,1 % grün und 12,1 % weiß (Tabelle 23).

Tabelle 24: Charakterisierung des Phänotypes der Laubblätter von *Dendranthema grandiflorum* ‘Pirol’ nach Adventivsprossinduktion aus Internodienstücken mit 50% Variegation

	Phänotyp der Regenerate			Gesamt
	grün	variegat	weiß	
Gesamt	141	41	25	207
Prozentual (%)	68,1	19,8	12,1	100

Um die Konstitution der Adventivsprosse zu bestimmen, wurden von 20 grünen, 20 variegaten und allen 25 weißen Regeneraten der Epidermis untersucht. In all den analysierten Fällen wurde das Vorhandensein von Chlorophyll in der Epidermis beobachtet. Anhand dieser Ergebnisse kann man die Konstitution der Sprosse als GM (Abbildung 23), GG beziehungsweise GW bestimmen. Es wurden keine Pflanzen mit weißen oder grünen Rändern erzielt.

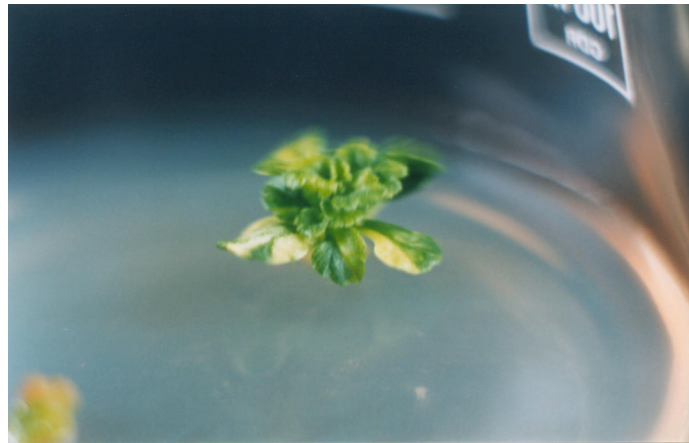


Abbildung 23: Variegater Adventivspross nach Internodienkultur bei *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol' auf MS Medium mit 0,2 mg/l NAA, 0,5 mg/l BAP und 1,7 mg/l AgNO<sub>3</sub>.

#### 3.1.2.3.2 Zusammenhang Sprossursprung und Mutterpflanzentyp

Es wurde keine direkte Beziehung zwischen dem Explantattyp und der Konstitution der neuen Adventivsprosse gefunden (Tabelle 25). Sowohl bei dem Pflanzenmaterial, das 50% Variegation aufwies, als auch bei den fast vollständigen Albinopflanzen (zu 95% weiß) entwickelten sich variegated, völlig grüne oder weiße Adventivsprosse (Abbildung 24).

Tabelle 25: Vergleich der Musterung von Explantat und Regenerat nach Adventivsprossinduktion bei *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'

Phänotyp der Explantate	Explantate mit Kallus	Sprosse gesamt	Grüne Sprosse	Variegated Sprosse	Weißer Sprosse	Epidermis
50 % variegat	52	57	37	13	7	56 grün, 1 gemischt
95 % weiß	11	20	9	9	2	20 grün

Die Entwicklung der variegaten Pflanzen bestätigt das Vorhandensein von Mischzellen in den Ursprungspflanzen. Genau wie im ersten Experiment entwickelten sich die Adventivsprosse im mittleren Teil der Internodien, so dass die Epidermis sich an ihrer Bildung nicht beteiligt.

#### 3.1.2.3.3 Konkurrenz bei der Ausbildung von Sprossen

56 der 57 entwickelten Adventivsprosse besaßen eine Epidermis, deren Schließzellen grüne Plastiden enthielten (Tabelle 25). Der Unterschied zwischen den Sprossen wurde bezüglich der Konstitution der zweiten Schicht des Sprossscheitels beobachtet. Nur bei einer von den 57 Pflanzen fand sich eine Epidermis, die Schließzellen mit chlorophyllintakten oder chlorophylldefekten Plastiden besaß und bei der außerdem das Mesophyll variegat war (Abbildung 24).



Abbildung 24: Adventivpross nach Internodienkultur bei *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'. links: weißer entwickelter Adventivpross und grüne Adventivprossprimordia aus einem Explantat mit 50 % Variegation

Neben der Zellkonkurrenz bei der Ausbildung von Sprossscheiteln wurde eine Konkurrenz im Entwicklungsverlauf der Pflanze beobachtet. Diese Tendenz trat sowohl bei den von den Internodien mit 50% Variegation als auch bei den von Albinos abstammenden Sprossen auf. 7 der 13 variegaten Sprosse, die von Pflanzen mit 50% Variegation regenerierten, entwickelten sich zu grünen Sprossen bzw. Pflanzen. Alle 9 variegaten

Regenerate, die von Explantaten mit 95% Weißanteil abstammten, entmischten zu Grün. In Übereinstimmung mit diesen Resultaten kann man die Konstitution der regenerierten Sprosse als GM, GG beziehungsweise GW bestimmen. Auch in diesem Fall wurden keine Pflanzen mit weißen oder grünen Laubblatträndern gefunden (Abbildung 25).

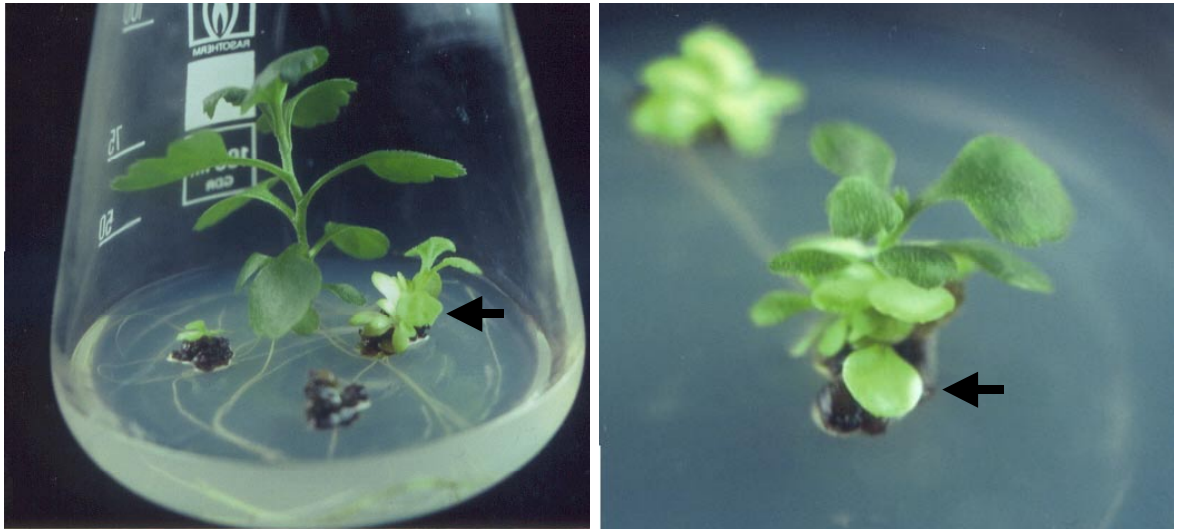


Abbildung 25: Konkurrenz bei der Ausbildung von Sprossen bei *Dendranthema grandiflorum* 'Pirol'. Die Pfeile markieren die Sprosse, die sich zu grün entmischten.

#### 3.1.2.4 Mikroskopische Untersuchungen und Selbstungen an *Dendranthema grandiflorum* 'Luyona'

*Dendranthema grandiflorum* 'Luyona' besitzt ebenso wie 'Pirol' ein makulantes Blattmuster. Blattquerschnitte durch diese Blätter zeigten eine ähnliche Schichtung wie bei 'Pirol': An die untere Epidermis, deren Schließzellen grüne Plastiden enthalten, schließen sich 3-4 Schwammparenchymschichten, eine Palisadenparenchymschicht sowie die obere Epidermis an.

##### 3.1.2.4.1 Mischzellennachweis bei *Dendranthema grandiflorum* 'Luyona'

Von jungen makulanten Blättern konnten in feingescheckten Bereichen Mischzellen nachgewiesen werden (Abbildung 26). Blattquerschnitte an 'Luyona' zeigten, dass Mischzellen im Mesophyll zu finden sind. In hellen älteren Geweben, sowohl im Palisaden- als auch im Schwammparenchym wurden nur plastidenfreie Zellen beobachtet.

Bei Übergängen vom grünen zum weißen oder im makulaten Bereich fallen Zellen mit wenigen normalen, grünen Chloroplasten auf. In jungen Blättern, wie bei ‘Pirol’, sind die unterschiedlichen Plastiden-Typen besser voneinander zu unterscheiden. Im ersten Laubblatt lassen sich Mischzellen im Mesophyll nachweisen. Darüber hinaus sind aber schon entmischte Zellen mit entweder mutierte, kleinen, hellen oder normalen, grünen Plastiden zu erkennen.

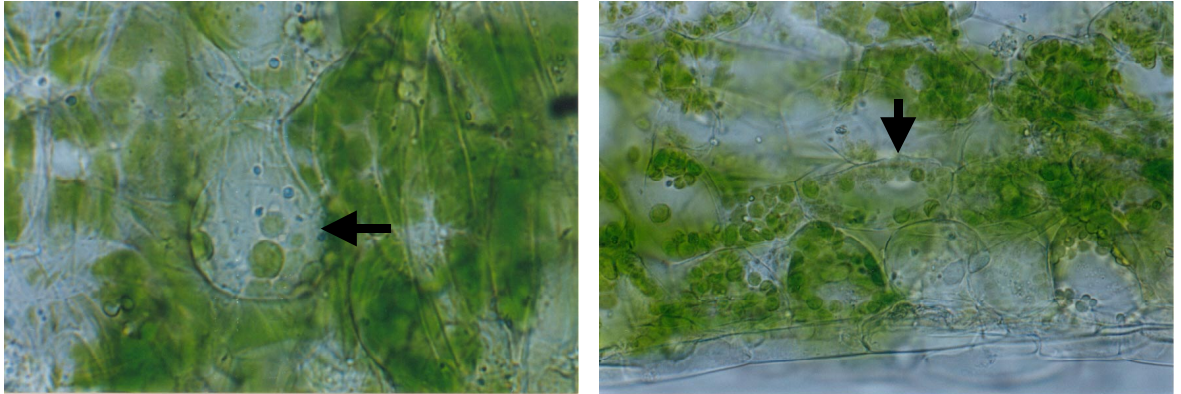


Abbildung 26: Beide Abbildungen zeigen Mischzellen von *Dendranthema grandiflorum* ‘Luyona’.

Aufgrund des geringen Versuchsumfangs der Selbstungen von variegaten Pflanzen ergab sich für diesen Klon kein eindeutiges Aufspaltungsverhältnis. Von 60 geselbsteten Köpfchen hatten nur 13 auch Samen angesetzt und 30 Samen keimten. Man kann, obwohl die Ergebnisse nicht umfangreich waren, die Anwesenheit von Mischzellen in der L2 erkennen. Innerhalb der Nachkommenschaft zeigte sich eine Aufspaltung in weiße, grüne und variegata Sämlinge (Abbildung 27). Eine Wiederholung der Selbstungen mit einer größeren Anzahl von Pflanzen ist zu empfehlen.

Tabelle 26: Übersicht der Musterungen von Sämlingen aus Selbstungen an makulaten Pflanzen von *Dendranthema grandiflorum* ‘Luyona’

Anzahl der Sämlinge	Gesamt	Phänotyp der Sämlinge		
		Variegat	Grün	Weiß
Absolut	30	1	28	1
Prozentual	100%	3,33%	93,33%	3,33%



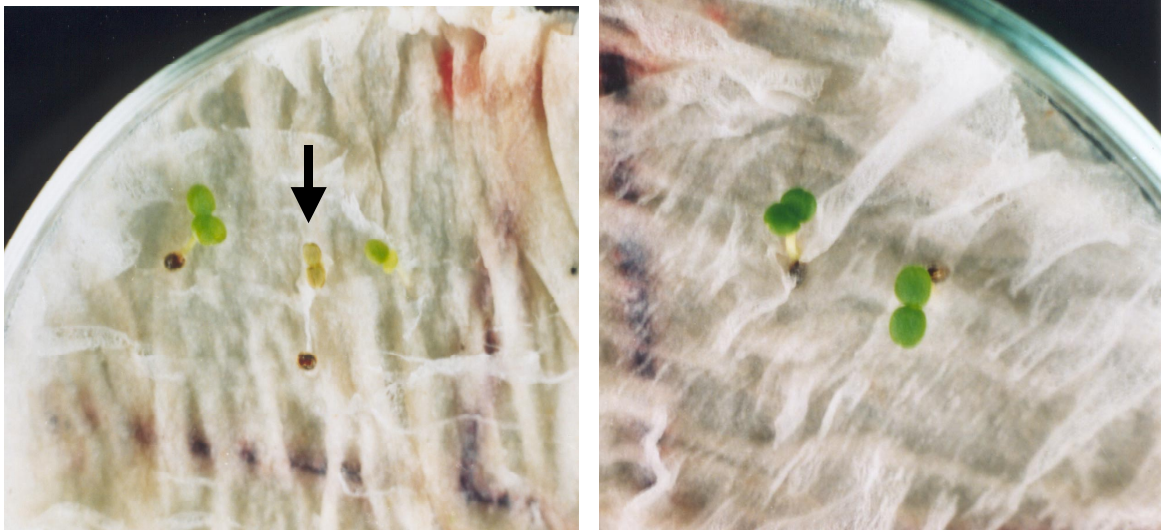


Abbildung 27: Sämlinge nach Selbstungen von *Dendranthema grandiflorum* 'Luyona'. links: Der Pfeil markiert eine Albinopflanze, die nur die Keimblätter ausbildete und abstirbt, rechts: grüne Sämlinge.

#### 3.1.2.5 Sprossscheiteluntersuchungen an den Sorten 'Pirol' und 'Luyona' von *Dendranthema grandiflorum*

Die Musteranalysen auf morphologischer und anatomischer Ebene an chimärischen Pflanzen von *Dendranthema grandiflorum* 'Luyona' und 'Pirol' zeigten, dass im Sprossscheitel nur zwei voneinander unabhängige Schichten existieren und in das Laubblatt eingehen. Normalerweise stammt von L1 nur die Epidermis und L2 bildet in den Blättern das gesamte Mesophyll. In Längsschnitten durch Sprossscheitel und Achselknospen wurde der entsprechende Aufbau der Apikalmeristeme überprüft.

In allen untersuchten 35 Sprossscheiteln sowie 4 Achselknospen von 'Pirol' wurden nur zwei Schichten gefunden (Tabelle 27). Bei 'Luyona' wurden 16 Längsschnittserien durch Sprossscheitel untersucht, bei denen ebenfalls nur zwei Schichten nachgewiesen wurden (Abbildung 28).



Tabelle 27: Sprossscheiteluntersuchungen zum Nachweis unabhängiger Scheitelschichten bei den Sorten ‘Pirol’ und ‘Luyona’ von *Dendranthema grandiflorum*

Sorten	Scheitel Anzahl	Sprossscheitel Anzahl	Achselknospen Anzahl	Scheitel- schichten
‘Pirol’	39	35	4	2
‘Luyona’	16	16	0	2

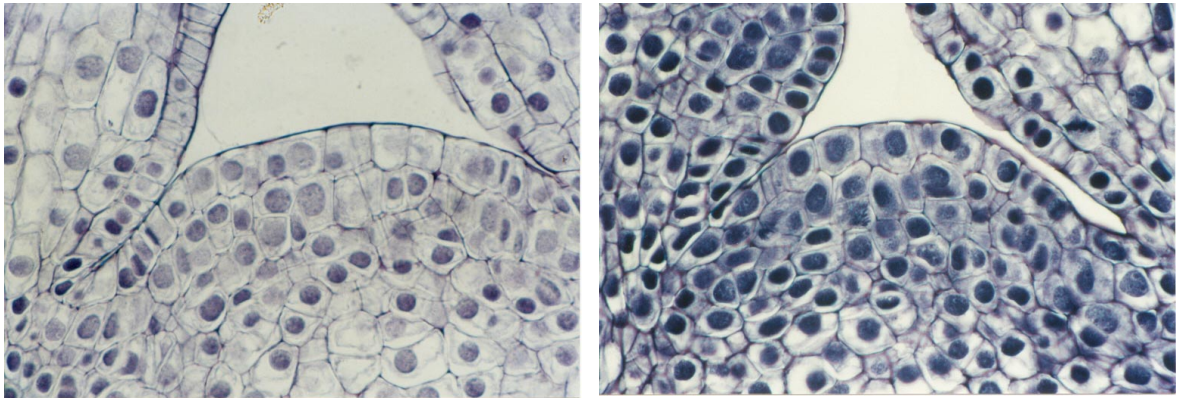


Abbildung 28: Längsschnitte durch Sprossscheitel von *Dendranthema grandiflorum*. links: ‘Pirol’, rechts: ‘Luyona’. Beide Sorten enthalten nur zwei Schichten im Sprossscheitel.

### 3.2 Untersuchungen zur Problematik ‘Immerspaltende Periklinalchimären’

#### 3.2.1 *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen, die durch anatomische Analysen und die Beobachtung der regelmäßig auftretenden grünen Sprosssektoren bei den Austrieben von *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’ erlangt wurden, ist es nötig nachzuweisen, ob diese Pflanze eine periklinale Chimäre der Konstitution GA ist und ob dieses Phänomen einer periklinen Aufspaltung im Sprossscheitel ist oder der Entwicklungsphase des Blattes geschuldet.

##### 3.2.1.1 Mikroskopische Untersuchungen an *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’

Beobachtungen an *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’ zeigten regelmäßig entstehende, grüne Sprosssektoren. Bei anatomischen Untersuchungen der Blätter ließen sich grüne, normale Plastiden in den Schließzellen nachweisen. Aber an den Stellen, wo hellgrünes und grünes Mesophyll aneinander grenzte, hatten die grünen Gewebe immer direkten Kontakt zur Epidermis (Abbildung 29). In den Aurea-Bereichen waren hellgrüne Plastiden im Mesophyll zu finden.

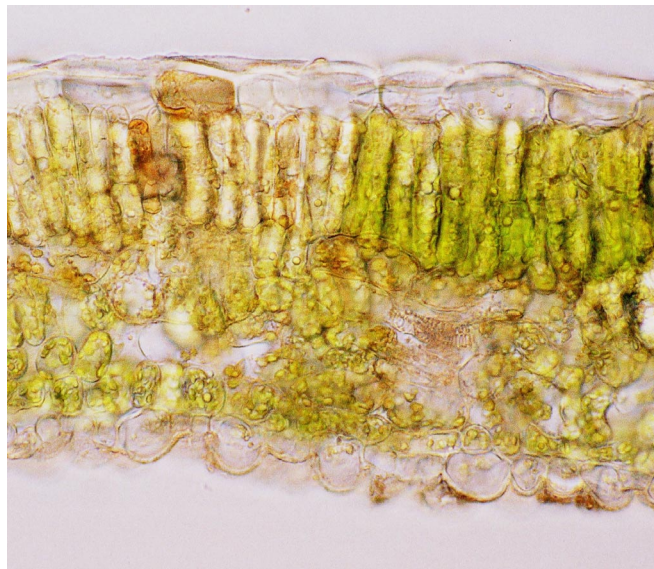


Abbildung 29: Querschnitt durch ein Blatt von *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’: Die Abbildung zeigt einen Übergang vom Aurea- zum grünen Mesophyll.

### 3.2.1.2 Musteranalyse

Die Regelmäßigkeit der grünen Sprosssektoren, die über mehrere Internodien hinweg zu verfolgen sind, ist ein Hinweis, dass bei entwicklungsgeschichtlicher Bedingtheit dieser Panaschüre die entscheidenden periklinen Teilungen in der L1 des Sprossscheitels gesucht werden müssen (Abbildung 30). Manchmal sind Erweiterungen des Sektors bis zum rein grünen Sprossumfang, aber auch Verkleinerungen des Sektors bis zum rein hellgrün erscheinenden Spross zu beobachten.

Um mögliche perikline Teilungsmuster oder –häufigkeiten in L1 bei *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’ zu finden, wurden 393 Austriebe untersucht. Davon begannen 61 mit einem grünen Sektor, keiner war rein grün und die restlichen 332 waren phänotypisch Aurea. Im Einzelfalle wurden als Minimum 3, als Maximum 37 Blätter gezählt. Aus diesen Ergebnissen wurde festgestellt, dass 'Goldflame' eine Phyllotaxy 2/5 zeigt. Die Blätter, die im Bereich eines grünen Sektors ansetzten, besaßen mehr oder weniger viel grünes Mesophyll, je nachdem, ob sich der Blattansatz ganz oder nur teilweise im grünen Sektorbereich befand.

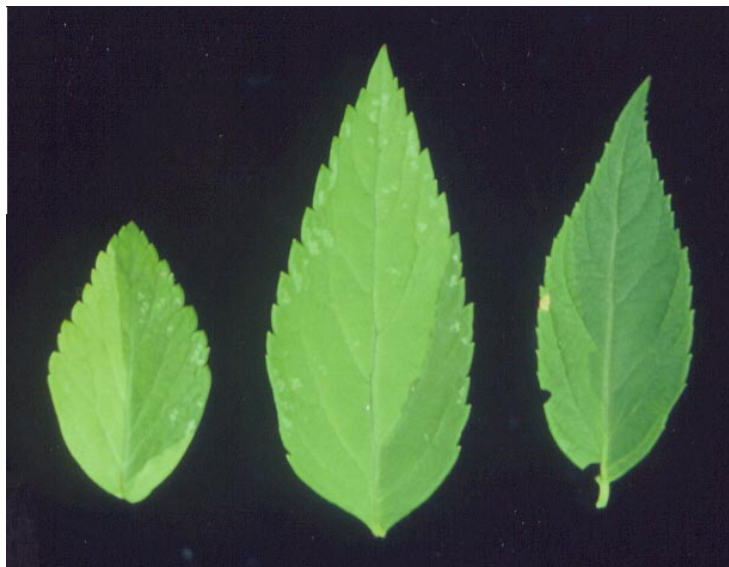


Abbildung 30: *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’. Die Scheckungsmuster von Blatt 0, 5 und 10 eines Achsel-sprosses: Diese Blätter liegen übereinander im Bereich eines schmalen, grünen Sektors.

### 3.2.1.3 Wurzelaustriebe bei *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’

Wurzelaustriebe an ‘Goldflame’ konnten von Wurzelstücken nicht induziert werden. Nach ein paar Wochen vertrockneten die Wurzeln und starben ab. Bessere Ergebnisse wurden mit dem modifizierten Wurzelfreilegungsversuch erreicht (Abbildung 31). Obwohl die Wurzeln nicht größer und dicker als bei der ersten Methode waren, blieb das Wurzelsystem unbeschädigt und neue Triebe ließen sich induzieren. Bei dieser Methode wuchsen 77 Triebe von 203 unabhängigen freigelegten Wurzeln erzielt.



Abbildung 31: Wurzelaustriebe bei *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’.

Alle im Jahr 1999 erfolgten Austriebe hatten ausnahmslos nur hellgrüne Blätter. Um die Stabilität der Entmischung zur Innenkomponente zu überprüfen, wurden im Jahr 2000 acht Pflanzen weiter beobachtet. Im Laufe des Jahres zeigten die Kontrollpflanzen regelmäßig grüne Sprosssektoren, dagegen zeigten sich an keinem der acht Büsche aus Wurzel-austrieben Grünsports, sondern nur hellgrüne Blätter (Tabelle 28). Dieser Befund kann als Beweis für eine Entmischung der Chimäre zum Homohistonten gelten.

Tabelle 28: Charakterisierung des Phänotypes der Laubblätter von *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’ nach Austriebinduktion aus Wurzeln.

		Phänotyp der Pflanze	
Pflanzentyp	Pflanze gesamt	Aurea	Grüne Sektoren
Pflanze aus Wurzelaustrieb	8	8	0
Kontrolle	15	15	15

#### 3.2.1.4 In-vitro-Kultur von *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’

Genau wie die Induktion von Wurzelaustrieben wurde die Regeneration von Pflanzen mit Gewebekultur-Techniken angewandt, um die chimärische Konstitution einer Pflanze durch Segregation in ihre verschiedenen Komponenten zu untersuchen. Ausgehend von den Ergebnissen der In-vitro-Kultur bei *Spiraea bumalda* ‘Shirobana’ (vgl. mit 3.2.1.6.4) gelang es, eine erfolgreiche Sprossregeneration durch In-vitro-Kalluskultur mit anschließender Adventivsprossbildung bei ‘Goldflame’ durchzuführen.

##### 3.2.1.4.1 Kallus-Kultur

Eine Kallus-Bildung erfolgte auf MS Nährmedium mit verschiedenen Kombinationen von 2,4-D und BAP nach 4 Wochen. Je nach Kombination bildeten 55% bis 90% der Explantate Kallus. Mit der Kombination von 0,5 mg/l BAP und 3 mg/l 2,4-D wurde der höchste Prozentsatz an Explantaten mit Kallus erreicht. Eine positive Tendenz der Kallusinduktion wurde mit der Zunahme von 2,4-D in Kombination mit BAP beobachtet (Tabelle 29).

Tabelle 29: Ergebnisse der Kallusinduktion bei *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’

MS + Phytohormone (mg/l)		Explantate mit Kallus (%) *
BAP	2,4-D	
0,5	1	50
0,5	2	80
0,5	3	90
0,5	4	75
0,5	5	80
1	1	35
1	2	70
1	3	70
1	4	80
1	5	55
* 20 Wiederholungen/Behandlung		

#### 3.2.1.4.2 Sprossbildung

Ausgehend davon, dass man aus Blattexplantaten Kallus und keine direkte Induktion von Adventivsprossen erlangte, war es notwendig, verschiedene Kombinationen von Wachstumsregulatoren zu testen, um irgendeinen Typ von Organogenese zu befördern (Abbildung 32). Für die Sprossbildung aus Kallus wurden Medien mit verschiedenen Konzentrationen von TDZ und NAA getestet. Ohne Phytohormone und mit NAA-Zusatz in verschiedenen Konzentrationen blieb die Sprossbildung aus. (Tabelle 30).

Auf Medien mit TDZ oder TDZ und NAA konnten 1237 Sprosse aus Kallus induziert werden. Die beste Sprossinduktion erfolgte bei 1 mg/l TDZ, aber nur 17,65 % der Explantate wurden induziert. Bessere Ergebnisse wurden mit der Kombination von 0,1 mg/l NAA und 1 bzw. 3 mg/l TDZ (Abbildung 32) erreicht. Höhere Konzentrationen von TDZ (5 mg/l ohne NAA) förderten die Induktion von Adventivsprossen (35 Explantate), aber bei der Kombination von TDZ mit verschiedenen NAA-Konzentrationen wurde mit geringeren TDZ-Konzentrationen eine bessere Sprossinduktion erreicht (Tabelle 30).

Tabelle 30: Übersicht der Ergebnisse der Adventivsprossinduktion aus Kalli von *Spiraea bumalda* 'Goldflame' bei verschiedenen Phytohormonkonzentrationen und -kombinationen

MS + Phytohormone (mg/l)		Explantate mit Adventivspross-induktion (%)*	Durchschnittliche Anzahl der Adventivsprosse pro Explantat
TDZ	NAA		
0	0	0	0
0	0,1	0	0
0	0,3	0	0
1	0	17,65	57,33
1	0,1	41,18	36,00
1	0,3	35,29	15,5
2	0	17,65	24,00
2	0,1	47,06	17,38
2	0,3	47,06	25,00
3	0	5,88	14,00
3	0,1	41,18	28,43
3	0,3	47,06	5,50
5	0	5,88	35,00
5	0,1	17,65	2,33
5	0,3	23,53	2,50

\* 17 Wiederholungen/Behandlung

Vereinzelte Sprosse wurden auf MS-Medium mit halber Konzentration der Makrosalze ohne Phytohormonzusatz gebracht, um Wurzeln zu induzieren. Bewurzelte Jungpflanzen kamen zur Weiterkultur in Erdsubstrat. Nicht alle Pflanzen überlebten die neuen Wachstumsbedingungen.



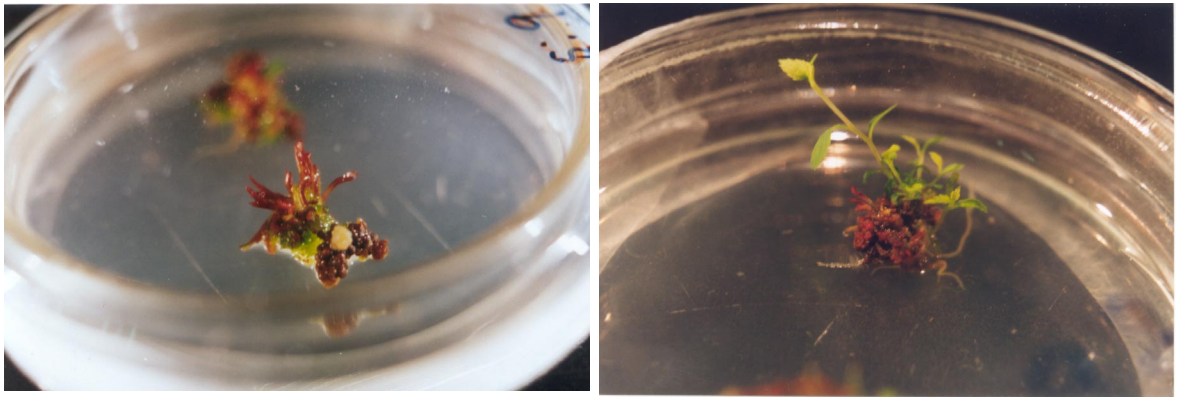


Abbildung 32: Adventivsprossinduktion aus Kallus bei *Spiraea bumalda* 'Goldflame' auf MS Nährmedium. links: 0,1 mg/l NAA und 1 mg/l TDZ, rechts: 0,3 mg/l NAA und 3 mg/l TDZ.

Von den 1237 aus Kallus gebildeten Sprossen repräsentierten 1233 den Phänotyp Aurea von 'Goldflame' und nur 4 Pflanzen den grünen Phänotyp, der für die L1 der Pflanzen GA charakteristisch ist. Zwei dieser Pflanzen entstammten dem gleichen Kallus und im Verlaufe ihrer Entwicklung waren sie in ihrem Habitus identisch mit den chimärischen Pflanzen von 'Goldflame', unterschieden sich aber in der Blattfarbe. Die anderen zwei Klone stammten aus verschiedenem Kallus. Sie besaßen einen von 'Goldflame' verschiedenen Phänotyp (Habitus, Blattform und Blattfarbe).

Um die Stabilität der Entmischung zur Innenkomponente zu überprüfen, wurden im Jahr 2000 die überlebenden Pflanzen ins Freiland gebracht und weiter beobachtet. 29 Büsche zeigten keinen Grünsport sondern nur hellgrüne Blätter, dagegen bildeten zwei der Kontrollpflanzen regelmäßig grüne Sprosssektoren (Tabelle 31). Der Wuchstyp, die Form und Farbe des Blattes der zwei überlebenden grünen, im Phänotyp von *Spiraea bumalda* 'Goldflame' völlig verschiedenen, blieben stabil. Dieser Befund kann als Beweis für eine Entmischung der Chimäre zum Homohistonten gelten.

Tabelle 31: Charakterisierung des Phänotypes der Laubblätter von *Spiraea bumalda* 'Goldflame' und ihrer Regenerate nach der Entmischung durch In-vitro-Kultur.

Pflanzentyp	Pflanze gesamt	Phänotyp der Pflanze		
		Aurea	Grün	Aurea mit grünen Sektoren
Adventivsprosse	31	29	2	0
Kontrolle	3	1	0	2



#### 3.2.1.4.3 Abstammung der Adventivsprosse

Auf Grund der Ergebnisse stellte sich die Frage, ob diese Veränderungen auf die somaklonale Variabilität bei der Vervielfältigung von Pflanzen durch die Gewebekultur zurückzuführen waren oder ob diese Pflanzen aus Kalli stammten, die sich aus der Epidermis entwickelt hatten.

Resultate aus chronologisch histologischen Untersuchungen an Laubblättern, bei denen Kallus induziert wurde, verdeutlichten, dass der Kallus aus Mesophyllzellen abstammt und die Epidermis sich nicht an der Kallusinduktion und später in der Regeneration von Pflanzen beteiligte (Abbildung 33).

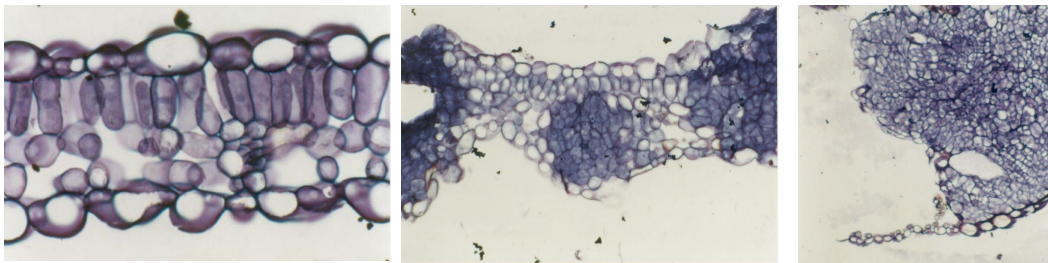


Abbildung 33: Histologische Untersuchungen an Laubblättern von *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’. von links nach rechts: 0, 6 und 12 Tage nach Kallusinduktion auf MS Medium mit 0,5 mg/l BAP und 5 mg/l 2,4-D. Es wird deutlich, dass der Kallus von Mesophyllzellen abstammt.

#### 3.2.1.5 Sprossscheiteluntersuchungen an *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’

Die Musteranalysen auf morphologischer und anatomischer Ebene an variegaten Periklinalchimären von *Spiraea bumalda* ‘Goldflame’ zeigten, dass im Sprossscheitel nur zwei voneinander unabhängige Schichten existieren und in das Blatt eingehen. Es formiert sich im mittleren Teil eines Sprossscheitels bzw. einer Achselknospe ein scheinbar dreischichtiger Aufbau. Wie bei den *Araceae* ist in den Randbereichen des Scheitels die antikline Struktur der L2 nicht mehr aufzufinden, weshalb sie an dieser Stelle zum Korpus gerechnet werden muss. Normalerweise stammt von L1 nur die Epidermis ab und L2 bildet in den Blättern das gesamte Mesophyll. In Längsschnitten durch Sprossscheitel und Achselknospen wurde der entsprechende Aufbau der Apikalmeristeme überprüft.

Bei 7 Längsschnittserien von 26 untersuchten Sprossspitzen sowie 9 untersuchten Achselknospen wurden in der ersten Schicht perikline Aufspaltungen nachgewiesen. (Tabelle 32, Abbildung 34).

Tabelle 32: Sprossspitzenuntersuchungen zum Vorliegen perikliner Teilungen in den Spitzenschichten bei *Spiraea bumalda* 'Goldflame'

	Spitze Anzahl	Schicht mit periklinen Aufspaltungen			
		L1	L2	L1+L2	Ohne
Sprossspitze	26	2	7	3	14
Achselknospen	9	0	1	2	6

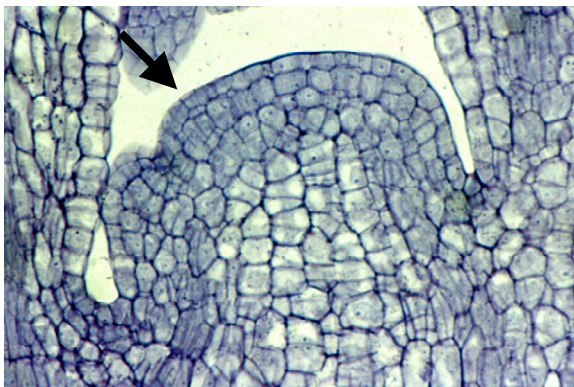


Abbildung 34: Längsschnitte durch Sprossspitze von *Spiraea bumalda* 'Goldflame' im Kunststoff-Dauerpräparat, Färbung mit Hämatoxylin nach Delafield; Die Pfeile markieren die Stellen, wo perikline Teilungen stattfinden, links: perikline Teilungen in der L1, rechts: perikline Teilungen nur in L2.

### 3.2.1.6 *Spiraea bumalda* 'Shirobana'

#### 3.2.1.6.1 Blattanatomie

Der Blattquerschnitt von *Spiraea bumalda* 'Shirobana' zeigt folgenden Blattaufbau: An eine untere Epidermis schließen sich 3 bis 5 Schwammparenchymsschichten an, 2 bis 3 Schichten Palisadenzellen folgen und dann die obere Epidermis. Grüne, normale Plastiden wurden in den Mesophyllzellen und in den Schließzellen der unteren Epidermis beobachtet. Demzufolge ist 'Shirobana' homohistisch im Bezug auf die grüne Blattfarbe. Darüber hinaus bildete sich häufig Anthocyan in der unteren und oberen Epidermis, hauptsächlich an Pflanzen im Freiland.

### 3.2.1.6.2 Mikroskopische Untersuchungen des Blütenblattes

An dem Pflanzenmaterial wurden im Untersuchungszeitraum völlig rote, weiße, rosa-farbene Blüten sowie Blüten mit roten und weißen Petalen beobachtet. Anhand von Blütenblattquerschnitt-Frischpräparaten und Epidermisabzügen wurde die Farbstoffbildung aller vorhandenen Blüten-Typen von 'Shirobana' geprüft. Vergleichende Untersuchungen an Querschnitt- und Epidermis-Frischpräparaten von weißen Petalen mit roten Sektoren zeigten, dass Blütenfarbstoff in den roten Sektoren in beiden Epidermen aber nicht im Mesophyll gebildet wird. Es wurde keine Farbstoffbildung in den weißen Sektoren beobachtet.

Rote Blüten zeigten in der oberen und unteren Epidermis eine dunkelrote Zellfärbung und ein farbloses Mesophyll. Bei rosafarbene Blüten war der Anthocyaninhalt und die Farbstoffintensität in den Epidermiszellen geringer als bei den roten Blüten. Im Mesophyll wurde kein Anthocyan gebildet. Blütenblattquerschnitte der weißen Blüten zeigten eine farblose obere und untere Epidermis sowie Mesophyllzellen ohne Anthocyan (Abbildung 35).



Abbildung 35: links: Blüte völlig rot, rosa bzw. weiß bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana' rechts: Entsprechende Blütenblattquerschnitte. Die Blüten, die eine rote Blütenfarbe haben, zeigten, dass Blütenfarbstoff bei 'Shirobana' nur in beiden Epidermen gebildet werden kann

#### 3.2.1.6.3 Wurzelastriebe bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana'

Von *Spiraea* 'Shirobana' ließen sich keine Austriebe an Wurzelstücken induzieren. Um eine erfolgreiche Wurzelastriebeinduktion zu bekommen, wurde die modifizierte Wurzelfreilegungsmethode benutzt. Bei dieser Methode wuchsen 177 Triebe von 283 unabhängigen Wurzeln (Abbildung 36).



Abbildung 36: Wurzelaustriebe bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana'

17 von den 177 Wurzelaustrieben wurden in den Jahren 1999 und 2000 weiter beobachtet. Die Blütenbonituren der regenerierten Pflanzen von *Spiraea bumalda* 'Shirobana' zeigten, dass 88,24 % der Pflanzen Blüten mit roten und weißen Petalen besaßen und 5,88 % völlig rot bzw. weiß blühten. Diese Verhältnisse wurden auch in den Kontrollpflanzen beobachtet (Tabelle 33). Es konnte keine chimärische Konstitution in der Petalenmusterung gefunden und nachgewiesen werden. Offenbar sind die Farbunterschiede bei 'Shirobana' genetisch bedingt.

Tabelle 33: Ergebnisse der Blütenbonituren an 'Shirobana'-Pflanzen von Wurzelaustrieben. 2000.

	Insgesamt	weißblühend	rotblühend	weißblühend mit rot
Wurzelaustriebe	17	1	1	15
Prozentual (%)		5,88	5,88	88,24
Kontrolle	7	1	2	4
Prozentual (%)		14,29	28,57	57,14



#### 3.2.1.6.4 In-vitro-Kultur von *Spiraea bumalda* 'Shirobana'

Um das Entmischungs- und Regenerationsverhalten bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana' zu untersuchen und die Individualisierung der verschiedenen Komponenten perikliner Chimären zu erreichen, wurde 'Shirobana' in eine Kalluskultur überführt. Wegen der geringen Informationen über *Spiraea* in der In-vitro-Kultur war es notwendig, eigene Methoden zu entwickeln. Um pilzliche und bakterielle Kontaminationen zu vermeiden und aseptische *Spiraea*-Pflanzen zu erhalten, wurden die Sprosse zuerst mit einer 5%igen Hypochloritlösung und drei Tropfen Tween 80 für 15 min desinfiziert, danach dreimal mit autoklavierten Aqua destillata gespült, und als Sprosse mit 3 Achselknospen auf ein Vermehrungsmedium (MS mit 0,5 mg/l BAP) gesetzt (NORTON, 1986 a).

#### **Kalluskultur**

Um Kallus bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana' zu induzieren, wurden als Explantate aseptischen Blättern benutzt. Ergebnisse für den ersten Kalluskulturversuch, sind in Tabelle 34 aufgeführt. In den Varianten ohne Phytohormone oder nur mit BAP war die Kallusinduktion nicht erfolgreich. Kallusregeneration erfolgte (nach 4 Wochen) unter normalen Bedingungen in den Varianten mit 2,4-D und in bei verschiedenen Kombinationen mit 2,4-D und BAP. Eine hohe Kallusinduktion wurde mit verschiedenen Kombinationen von 2,4-D und BAP erreicht (Tabelle 34).

Tabelle 34: Ergebnisse der ersten Kallusinduktion bei *Spiraea bumalda* ‘Shirobana’

MS + Phytohormone (mg/l)		Explantate mit Kallus (%) *
BAP	2,4-D	
0	0	0
0	1	17
0	2	67
0	5	67
0,5	0	0
0,5	1	100
0,5	2	100
0,5	5	83
1	0	0
1	1	100
1	2	100
1	5	100
2	0	0
2	1	100
2	2	100
2	5	100
* 6 Wiederholungen/Behandlung		

Aufgrund positiver Ergebnisse wurden weitere Kallusinduktionsversuche bei *Spiraea bumalda* ‘Shirobana’ mit BAP (0,5 und 1,0 mg/l) und 2,4-D (1 bis 5 mg/l) durchgeführt. In den verschiedenen Kombinationen von BAP und 2,4-D hatten nach 4 Wochen 70% bis 100% der Explantate Kallus gebildet (Tabelle 35, Abbildung 37).

Tabelle 35: Ergebnisse der zweiten Kallusinduktion bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana'

MS + Phytohormone (mg/l)		Explantate mit Kallus (%) *
BAP	2,4-D	
0,5	1	90
0,5	2	90
0,5	3	100
0,5	4	70
0,5	5	80
1	1	80
1	2	80
1	3	80
1	4	90
1	5	90
* 10 Wiederholungen/Behandlung		

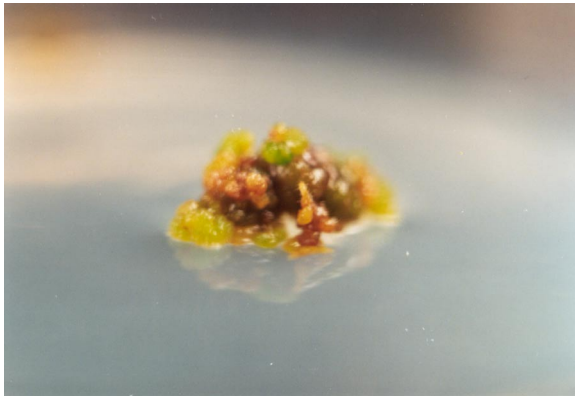


Abbildung 37: Kallusinduktion bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana' auf MS Nährmedium. links: 1 mg/l 2,4-D und 2 mg/l BAP, rechts: 5 mg/l 2,4-D und 1 mg/l BAP.



## Adventivsprossbildung

Adventivsprossinduktion aus Kallus war in den Varianten mit nur IES oder BAP und in den entsprechenden Kombinationen nicht möglich, ebenso bei der Kultur ohne Phytohormone oder nur mit NAA. Jedoch erfolgte in den Varianten mit nur TDZ und in Kombination mit NAA eine Sprossinduktion. Bei der Kombination von 5 mg/l TDZ und 0,3 mg/l NAA wurde die beste Sprossinduktion (12,5 Sprosse/Explantat) erreicht und 54,55 % der Explantate induzierten (Tabelle 36, Abbildung 38).

Tabelle 36: Regeneration von Adventivsprossen aus Kalli bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana'

MS + Phytohormone (mg/l)		Explantate mit Adventivsprossbildung (%) *	Durchschnittliche Anzahl der Adventivsprosse pro Explantat
TDZ	NAA		
0	0	0	0
0	0,1	0	0
0	0,3	0	0
1	0	18,18	8
1	0,1	4,55	3
1	0,3	4,55	2
2	0	9,09	14,5
2	0,1	0	0
2	0,3	9,09	0,5
3	0	4,55	12
3	0,1	4,55	27
3	0,3	31,82	7,43
5	0	9,09	1,5
5	0,1	13,64	10
5	0,3	54,55	12,58

\* 22 Wiederholungen/Behandlung

Um Wurzeln zu induzieren, wurden vereinzelte Sprosse auf MS-Medium mit der halben Konzentration der Makrosalze ohne Phytohormonzusatz gebracht. Bewurzelte Jungpflanzen wurden zur Weiterkultur in Erds substrat überführt. An allen in Erde überführten Pflanzen erfolgte eine Bonitur der Blütenfarbe.



Abbildung 38: Adventivsprossinduktion aus Kallus bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana' auf MS Nährmedium mit 1 mg/l TDZ.

Die Ergebnisse von den im Jahr 2000 blühenden Pflanzen zeigten ohne Ausnahme die nicht chimärische Konstitution von 'Shirobana'. Regenerierte Pflanzen (2) von Ausgangspflanzen mit weißen Petalen mit roten Sektoren zeigten das gleiche Muster und eine blühte weiß. Ein Regenerat, das von einer völlig weiß blühenden Pflanzen abstammte, blühte weiß mit rot. Die vier blühenden Kontrollpflanzen zeigten ohne Ausnahme weiße Petalen mit roten Sektoren. In der Tabelle 37 sind die Ergebnisse der Blütenbonitur von 'Shirobana' zusammengefasst.

Tabelle 37: Ergebnisse der Blütenbonituren von ‘Shirobana’-Pflanzen nach In-vitro-Kultur und den Kontrollpflanzen. 2000.

Herkunft der Explantate	insgesamt	blühend	weißblühend	weißblühend mit rot
weißblühend	7	1	-	1
weißblühend mit rot	9	3	1	2
Kontrolle (weißblühend mit rot)	9	4	-	4

Aufgrund der geringen Anzahl von Versuchspflanzen wären weitere Experimente im größeren Umfang sinnvoll.

#### 3.2.1.6.5 Untersuchungen des Sprossscheitels an *Spiraea bumalda* ‘Shirobana’

In Längsschnitten durch Sprossscheitel war der entsprechende Aufbau der Apikalmeristeme zu überprüfen. Bei 6 Längsschnittserien von 21 untersuchten Sprossscheiteln sowie 2 untersuchten Achselknospen wurden in der ersten Schicht perikline Aufspaltungen nachgewiesen. Bei allen anderen untersuchten Fällen teilte sich nur die zweite Schicht periklin (Tabelle 38, Abbildung 39). Anhand dieser Ergebnisse wird davon ausgegangen, dass bei *Spiraea bumalda* ‘Shirobana’ nur 2 Sprossscheitelschichten in das Laubblatt eingehen.

Tabelle 38: Sprossscheiteluntersuchungen zum Vorliegen perikliner Teilungen in den Scheitelschichten bei *Spiraea bumalda* ‘Shirobana’

	Scheitel Anzahl	Schicht mit periklinen Aufspaltungen			
		Nur L1	Nur L2	L1+L2	Ohne
Sprossscheitel	21	0	11	6	4
Achselknospen	16	1	9	1	5

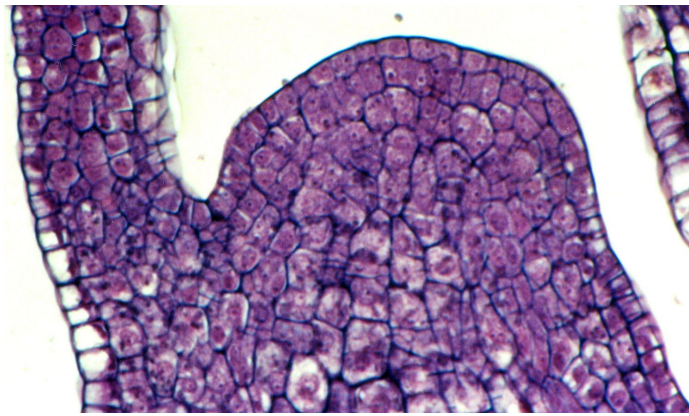


Abbildung 39: Längsschnitte durch einen Sprossscheitel von *Spiraea bumalda* 'Shirobana' im Kunststoff-Dauerpräparat, Färbung mit Hämatoxylin nach Delafield.

### 3.3 Hypoderm und Beeinflussung der Musterbildung

#### 3.3.1 Mikroskopische Untersuchungen an *Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata'

*Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata' zeigte bei Blattquerschnitten in der Regel einen 9 bis 10-schichtigen Blattaufbau. Im gesamten Blatt im grünen Randbereich und in der weißen Mittelzone befindet sich im Anschluss an die Epidermen ein Hypoderm. Blattoberseits besitzt das Hypoderm große Zellen, blattunterseits kleine Zellen. Die gesamte Gewebeschicht ist phänotypisch weiß (Abbildung 41). In den Stomata und Nebenzellen der untersuchten Blätter waren über sowohl grünen als auch über weißen Blattbereichen grüne Plastiden vorhanden (Abbildung 40). Die übrigen Epidermiszellen phänotypisch weiß.

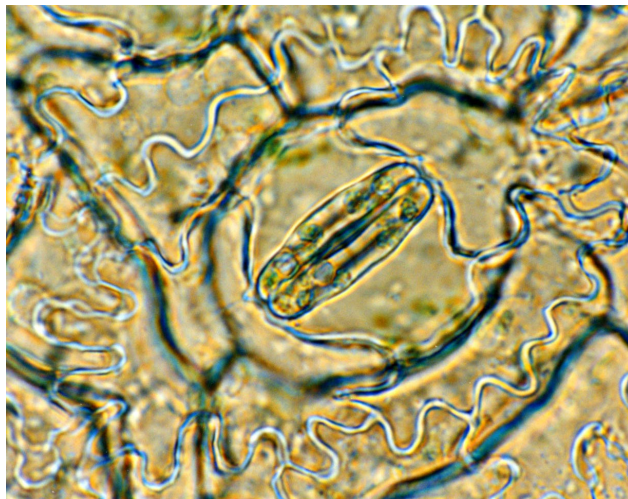


Abbildung 40: Epidermisabzug von *Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata', Die Schließ- und Nebenzellen besitzen grüne Plastiden.

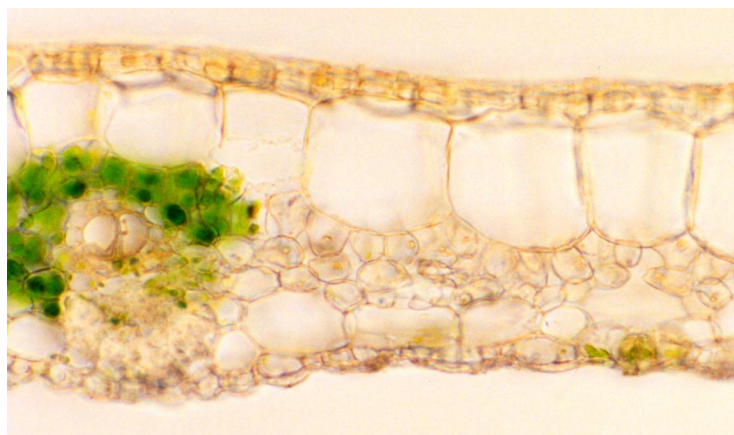


Abbildung 41: Querschnitt durch ein Blatt von *Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata', Im gesamten Blatt sowohl an Blattober- als auch Blattunterseite ist ein Hypoderm.

Im Bereich des weißen Binnenfeldes schließt sich das chlorophylldefekte Mesophyll sofort an das Hypoderm an. Dadurch ist das Binnenfeld unmaskiert, da im Bereich des Binnenfeldes weder die von der grünen L1 abstammende Epidermis noch das L2-bürtige Hypoderm Grünfärbung zeigen.

Bei jüngeren Blättern ist das Binnenfeld hellgrün, so als ob das weiße Gewebe von einer grünen Zellschicht maskiert wäre. Vergleichende Untersuchungen an Frischpräparaten von Blattquerschnitten jüngerer Blättern, die ein hellgrünes Binnenfeld hatten, zeigten, dass zwischen Epidermis und Mesophyll keine grüne Zellschicht vorhanden ist. Vielmehr

handelt es sich um Zellen mit mutierten Chloroplasten, die zunächst hellgrün erscheinen, sich aber in älteren Blättern zu weißen Plastiden entwickeln. Im hellgrünen Übergang des Blattes gibt es meistens eine grüne Schwammparenchymzellschicht im weißen Binnenfeld (Abbildung 42).

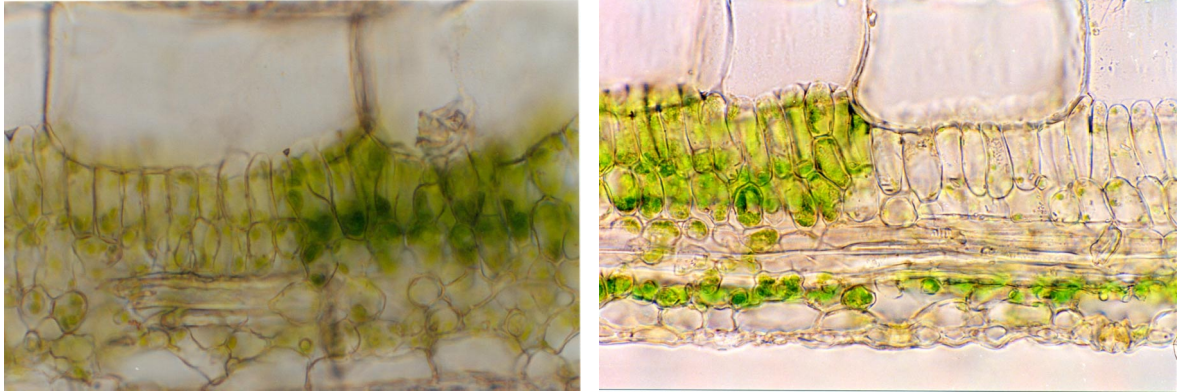


Abbildung 42: Blattquerschnitte durch das Binnenfeld von *Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata', links: bei jüngeren Blättern ist das Binnenfeld hellgrün; rechts: bei älteren Blättern ist das Binnenfeld weiß.

### 3.3.2 Mikroskopische Untersuchungen an *Ctenanthe oppenheimiana*

#### 3.3.2.1 Aufbau des Blattes von *Ctenanthe oppenheimiana*

Das Blatt von *Ctenanthe oppenheimiana* ist in der Regel neunschichtig. Folgender Aufbau ist bei dieser Pflanze charakteristisch: eine einschichtige obere und untere Epidermis und ein einschichtiges oberes und unteres Hypoderm umschließen zwei Palisadenparenchym- und meist zwei Schwammparenchymschichten.

Die oberen Hypodermzellen sind größer als die unteren Hypodermzellen, haben eine annähernd quadratische (oben) bzw. ovale Form (unten) und enthalten keine Plastiden. Normalerweise besitzen die Palisadenparenchymzellen längliche, die Schwammparenchymzellen dagegen eine runde Form.

Blattquerschnitte (Frisch- und Dauerpräparate) von graugrünen Sektoren zeigten Lufträume zwischen den Palisadenparenchymzellen. Die Zellen haben eine längliche bis ovale Form. Im Gegensatz dazu sind in normalen grünen Bereichen längliche rechteckige Palisadenparenchymzellen beobachtet worden und sehr kleine Zellzwischenräume (Abbildung 43).



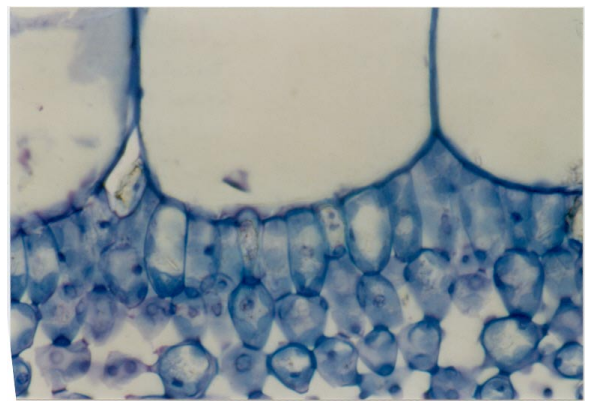
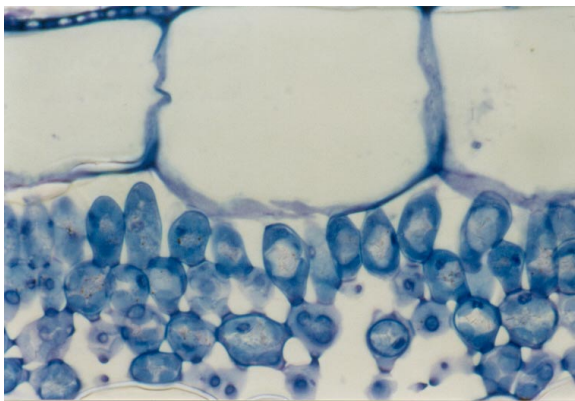


Abbildung 43: Blattquerschnitte von *Ctenanthe oppenheimiana* im Kunststoff-Dauerpräparat, Färbung mit Toluidinblau; links: Der Schnitt durch den graugrünen Sektor zeigt Lufträume zwischen den Palisadenparenchymzellen, rechts: Schnitt durch einen grünen Bereich mit sehr kleinen Interzellularräume im Palisadenbereich.

Die Anwesenheit solcher Lufträume bewirkt, dass sich das einfallende Licht in den Lufträumen streut, bevor es die Chloroplasten erreicht. Das hat zur Folge, dass ein Teil des auftretenden Lichtes durch das Hypoderm bzw. die Epidermis reflektiert wird und die graugrüne Variegation an der Oberseite des Blattes entsteht (FOOSCREE und HENNY, 1990).

### 3.3.2.2 Anatomische Struktur eines chlorophylldefekten Blattes von *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor'.

Blattquerschnitte von *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor' zeigten eine bis auf die Schließ- und Nebenzellen chloroplastenfreie Epidermis. Eine Anthocyanausbildung, die für die rote Farbe auf der Unterseite verantwortlich ist, wurde ausschließlich in der unteren Epidermis beobachtet (Abbildung 44).

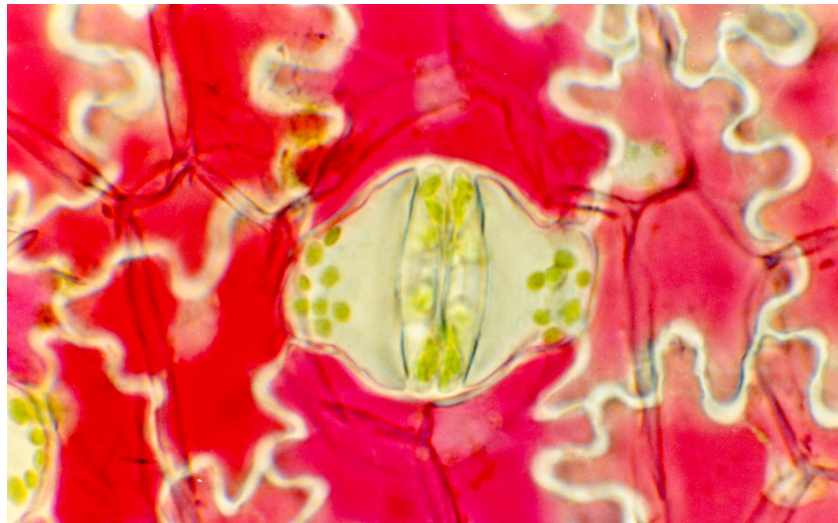


Abbildung 44: Abzug der unteren Epidermis von *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor': Die Schließ- und Nebenzellen enthalten grüne Plastiden.

Kleine grüne Randbereiche des Blattes enthalten grüne Mesophyllzellen, die wegen des chloroplastenfreien, durchgehenden Hypoderms keinen Kontakt zur Epidermis haben (Abbildung 45).



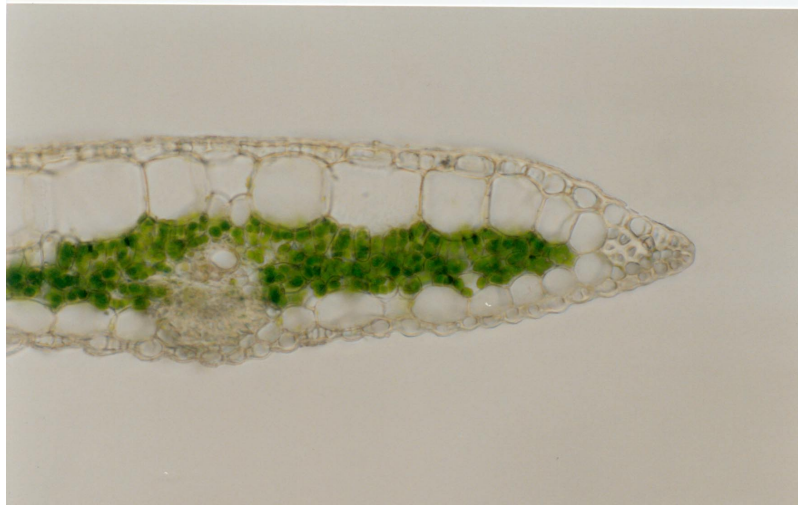


Abbildung 45: Querschnitt durch den weißen Blattrand von *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor', grüne Zellen befinden sich subhypodermal im weißen Randmesophyll. Ein Hypoderm ist blattober- und blattunterseits ausgebildet.

Im weißen Randbereich werden alle Schichten des Mesophylls von chlorophylldefekten Zellen aufgebaut. Im Bereich des grünen Binnenfeldes schließt sich sofort grünes Mesophyll an das Hypoderm an (Abbildung 46, rechts).

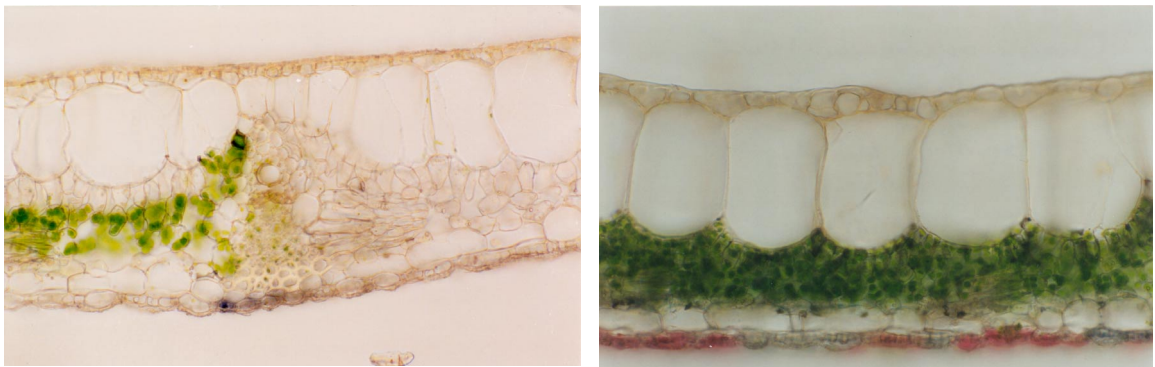


Abbildung 46: Blattquerschnitte von *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor', links: Übergang vom grünen Binnenfeld zum weißen Blattrand, rechts: Schnitt durch das grüne Binnenfeld.

### 3.3.3 Mikroskopische Untersuchungen an der *Rhododendron*-Hybride 'Goldflimmer'

Anhand anatomischer Untersuchungen an Blattquerschnitten im hellen Binnenfeld der *Rhododendron*-Hybride 'Goldflimmer' lässt sich folgender Blattaufbau feststellen: Auf die untere Epidermis, in deren Schließzellen grüne Plastiden nachweisbar sind, folgen eine oder manchmal eine zweite grüne Schicht von Schwammparenchymzellen, 5 bis 6

chlorophylldefekte Schwammparenchymschichten, 4 bis 6 weiße Palisadenschichten, eine Hypodermis und die obere Epidermis. Da im Bereich der Blattunterseite kein Hypoderm ausgebildet wird, ist hier die Färbung von L2-bürtigem Gewebe durchgehend ablesbar (Abbildung 47).

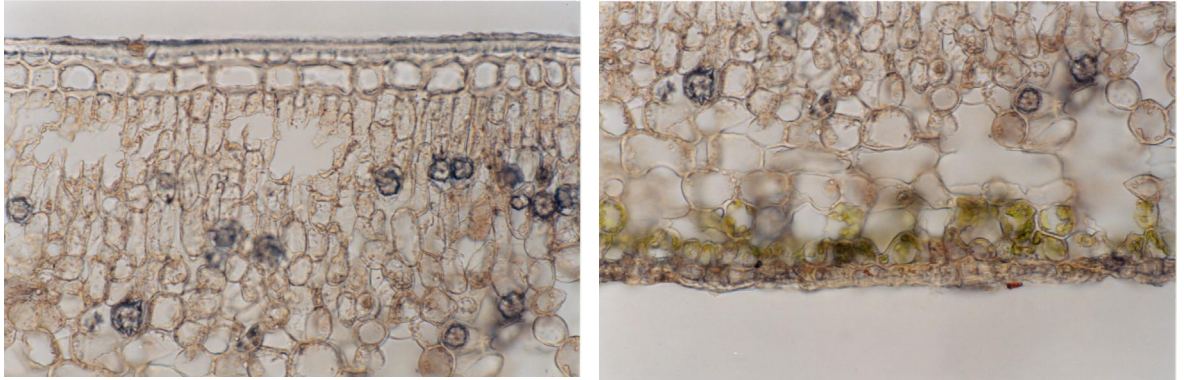


Abbildung 47: Blattquerschnitt der *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’, links: Im Bereich der Blattoberseite eines unmaskierten Binnenfeldes ist ein Hypoderm ausgebildet; rechts: Im Bereich der Blattunterseite ist die grüne Färbung von L2-bürtigem Gewebe ablesbar.

Im Übergang vom hellen Binnenfeld zum grünen Randbereich wurden an der Blattoberseite eine oder mehrere grüne Palisadenparenchymschichten beobachtet. Homohistisch grüne Triebe der *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’ zeigten ebenfalls eine Hypodermis unter der oberen Epidermis (Abbildung 48 und Abbildung 49).

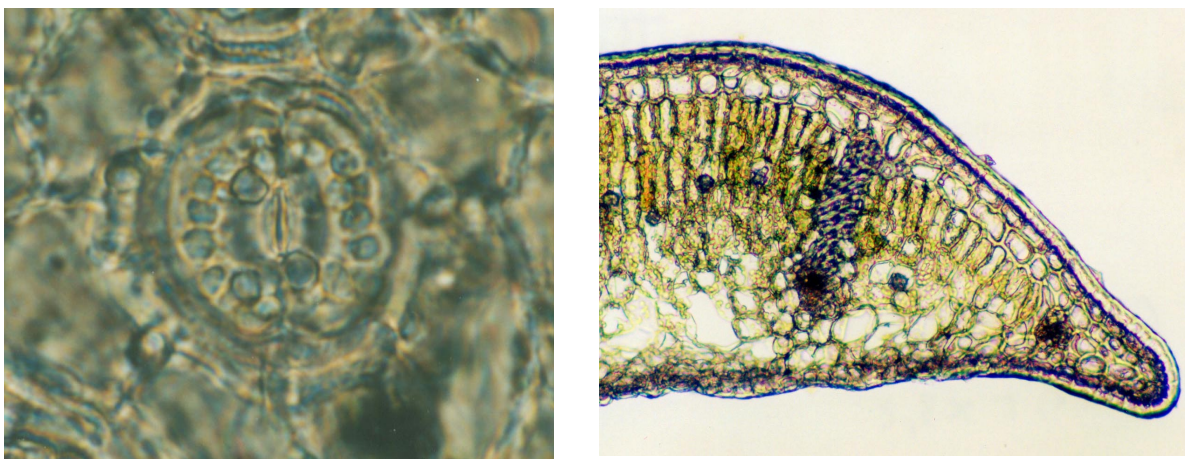


Abbildung 48: *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’, links: Schließzellen mit Chloroplasten, rechts: Der Blattquerschnitt durch den Blattrand zeigt das grüne L2-bürtige Mesophyll.



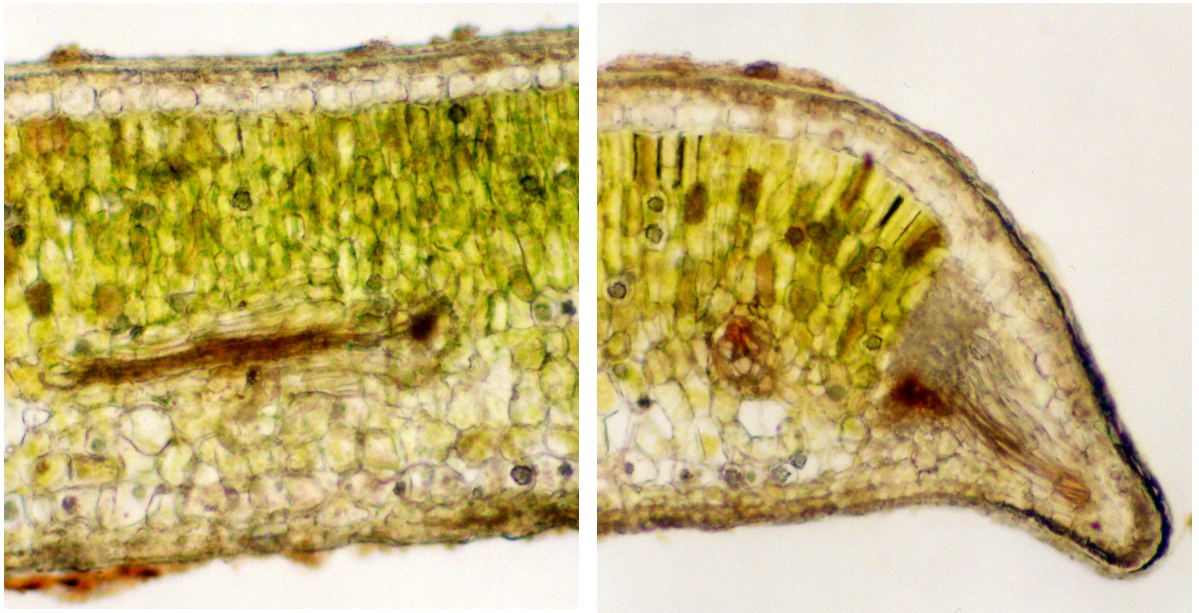


Abbildung 49: Querschnitt durch ein Blatt eines homohistisch grünen Triebes der *Rhododendron*-Hybride 'Goldflimmer', links: Blattquerschnitt im Bereich einer Blattmitte; rechts: Blattquerschnitt am Blattrand. Das gesamte Mesophyll im Blatt enthält grüne Plastiden und ein Hypoderm ist nur an der Blattoberseite zu erkennen.

#### 3.3.4 *Rhododendron simsii* 'Andenken an Vater Hedusch'

Blattquerschnitte durch das grüne Binnenfeld zeigten folgenden Blattaufbau: An die untere kleinzellige grüne Epidermis schließt sich eine weiße Schicht Schwammparenchym an. Die übrigen Mesophyllschichten (drei bis vier Schwammparenchym- und eine oder zwei Palisadenschichten) sind grün bis auf mindestens eine weiße Schicht unter der oberen großzelligen Epidermis (Abbildung 50).

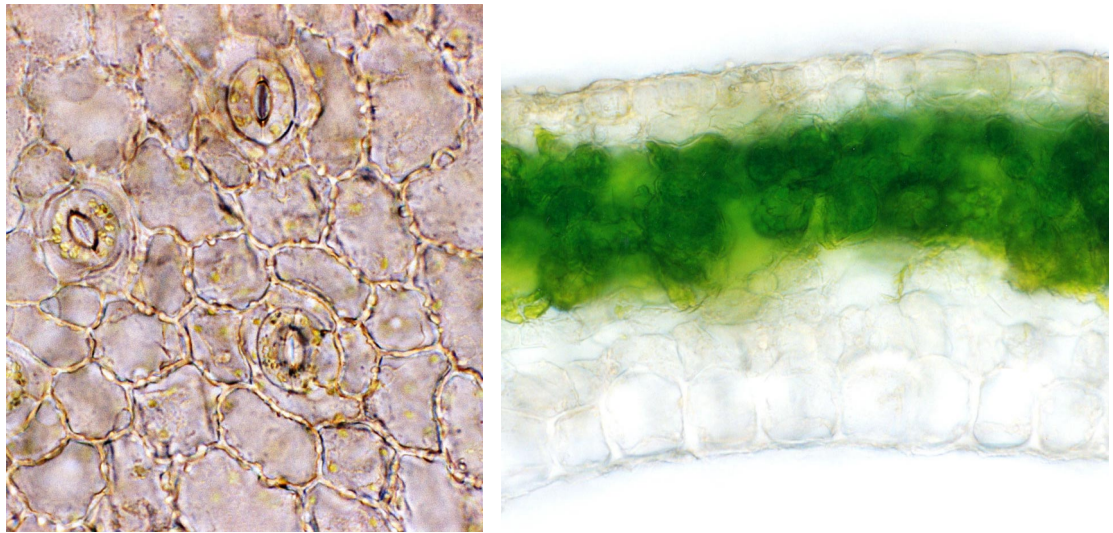


Abbildung 50: *Rhododendron simsii* 'Andenken an Vater Hedusch' links: Schließzellen mit Chloroplasten; rechts: Querschnitt durch das grüne Binnenfeld, eine weiße Mesophyllschicht ist blattober- und blattunterseits ausgebildet.

Durchbrüche der grünen Innenkomponente durch die weiße Schicht wurden beobachtet. An solchen Stellen erscheint das Blatt grüner. Bei dieser Sorte liegen in Schließzellen grüne Plastiden vor (Abbildung 51).

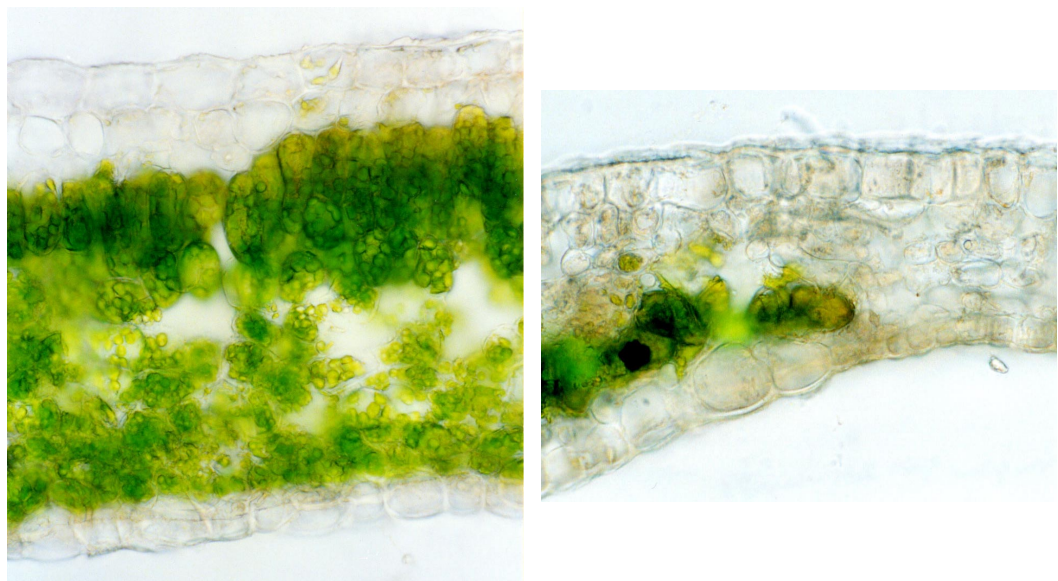


Abbildung 51: *Rhododendron simsii* 'Andenken an Vater Hedusch', links: Blattquerschnitt im Bereich eines Überganges vom graugrünen Sektor zum grünen Binnenfeld; rechts: Blattquerschnitt im Bereich eines Überganges von einem graugrünen Sektor zum weißen Blattrand

Grüne Sektoren am weißen Rand haben direkten Kontakt mit der Epidermis, sind aber durch weißes Gewebe vom grünen Binnenfeld isoliert (Abbildung 52).



Abbildung 52: *Rhododendron simsii* 'Andenken an Vater Hedusch'. Blattquerschnitt (rechts) im Bereich des weißen Randes des links dargestellten Blattes. Das grüne Gewebe ist L1-bürtig.

### 3.3.5 Untersuchungen von Sprossscheiteln

Die Musteranalysen auf morphologischer und anatomischer Ebene an variegaten, periklinalchimärischen Klonen der *Rhododendron*-Hybride 'Goldflimmer', *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor' und *Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata' haben gezeigt, dass im Sprossscheitel mindestens drei unabhängige Schichten vorliegen (Tabelle 39, Abbildung 53).

Tabelle 39: Sprossscheiteluntersuchungen

	Sprossscheitel Anzahl	Achselknospen Anzahl	Schichten Anzahl
<i>Ctenanthe lubbersiana</i> 'Variegata'	29	-	3
<i>Ctenanthe oppenheimiana</i> 'Tricolor'	11	-	3
<i>Rhododendron</i> -Hybride 'Goldflimmer'	15	-	3
<i>Rhododendron simsii</i> 'Andenken an Vater Hedusch'	4	6	3



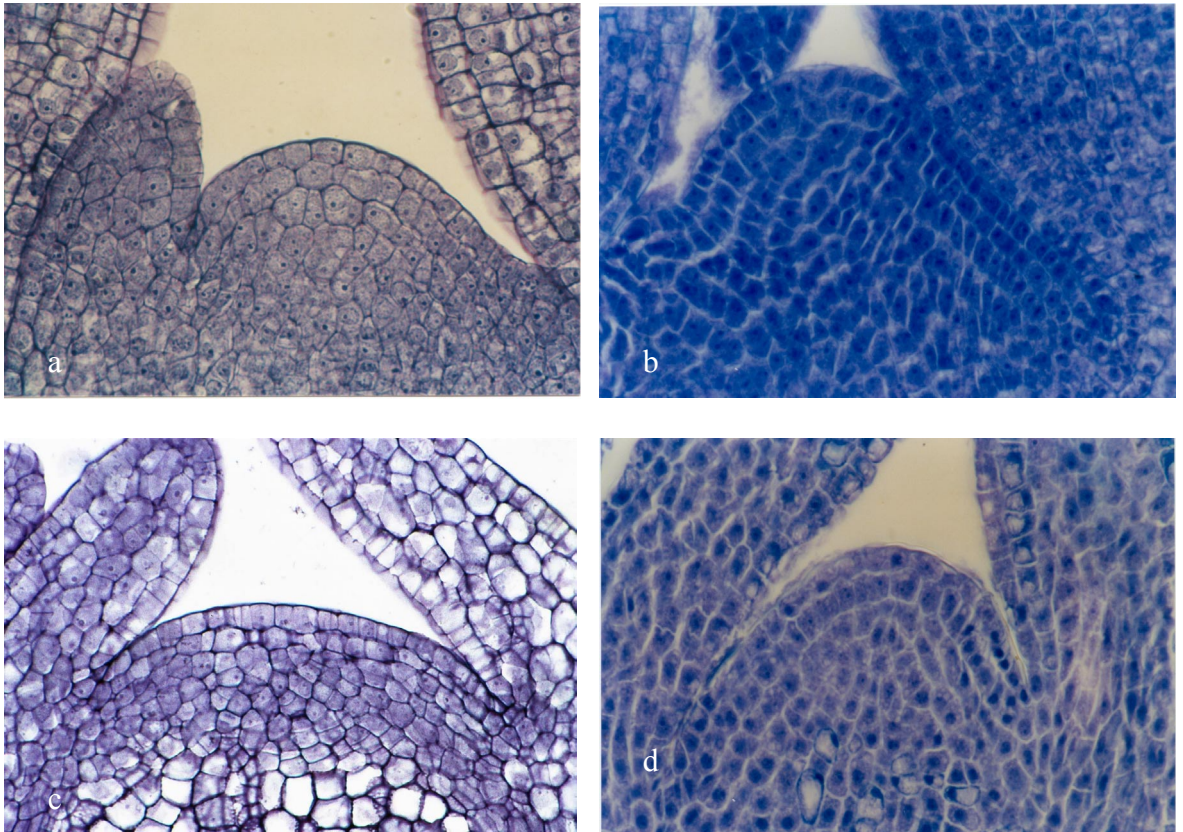


Abbildung 53: Mediane Längsschnitte durch Sprossspitze, a: *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor', b: *Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata', c: *Rhododendron simsii* 'Andenken an Vater Hedusch' und d: *Rhododendron*-Hybride 'Goldflimmer'

## **4 Diskussion**

### **4.1 Diskussion zur Problematik Blattmuster mit unregelmäßiger makulater Musterung**

#### **4.1.1 Ursprung und Entwicklung von Mosaiken**

In den letzten Jahren haben bei den Zierpflanzen diejenigen zunehmende kommerzielle Bedeutung erlangt, die irgendeinen Typ von Muster in ihrem Blattwerk aufwiesen. Erklärungen zum Ursprung dieser Musterungen sind komplex und verschiedenartig. Mit der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, den Ursprung, die Entwicklung und die Formierung von Mustern zu erklären, die sich in Pflanzen mit Plastommutationen finden.

Wichtig bei der Erklärung des Ursprungs und der Entwicklung von Mustern ist das Auftauchen oder die Existenz von genetischen Mosaiken. Genetische Mosaik bilden sich bei Organismen oder Pflanzen, in denen Zellen verschiedener Genotypen z. B. Unterschiede in der Ploidiestufe oder Pigmentproduktion in Koexistenz auftreten (MARCOTRIGIANO, 1997). Speziell sind die Mosaik bei Pflanzen untersucht worden, die durch spontane oder induzierte Mutationen im Kerngenom oder in den Chloroplasten entstehen (TILNEY-BASSETT, 1986).

Die Desoxyribonucleinsäure (DNS) einer Eukaryontenzelle ist zum größten Teil im Zellkern organisiert; daneben enthalten auch die Organellen des Plasmas (Plastiden und Mitochondrien) einen großen Anteil gencodierender DNS (LINNERT und ODENBACH, 1997). Plasmaorganellen vermehren sich durch Zweiteilung nach einer normalen Replikation ihrer DNS. Die Plasmagene sind konstant, aber es gibt auch Mutationen wie in den Kerngenen; ihre Übertragung von Zelle zu Zelle ist jedoch grundsätzlich von den Kerngenen verschieden (LINNERT und ODENBACH, 1997). Bei einer nukleären Mutation würden sich alle Chloroplasten der mutierten Zelle verändern. Phänotypisch würden an so einer Pflanze auch weiße und grüne Blatrflecken, -streifen oder -sektoren zu sehen sein, diese wären aber streng voneinander abgegrenzt.

Durch Mutationen kann es zu Defekten in der Strukturausbildung und im Pigmentgehalt der Chloroplasten kommen (SCHÖTZ, SENDER, BATHELT, 1966), so dass eine Zelle mit erbgungleichen Plastiden entsteht. Plastommutationen treten spontan in einer Häufigkeit von einigen Promille auf. Unter Einfluss von bestimmten Kerngenen lässt sich die Häufigkeit von solchen Mutationen erheblich steigern. Äußere Einflüsse, wie Bestrahlung oder Einsatz von chemischen Agenzien, können zu einer Erhöhung der Plastommutationsrate führen (MICHAELIS, 1958). Beispiele solcher Plastommutationinduktionen sind die

Behandlungen von *Saintpaulia* H. WENDL. mit (NMH) N-Nitroso-N-Methylharnstoff (POHLHEIM, 1974; 1981).

Ausgehend von Beobachtungen an unregelmäßigen weißen Arealen auf Blättern von *Pelargonium zonale* formulierte BAUR (1909) die Entmischungshypothese. Er geht davon aus, dass in einer Zelle gleichzeitig verschiedene Plastidentypen vorkommen können. Da die Plastiden sich nach Zufallsgesetzen verteilen, können in eine Tochterzelle mehr mutierte, in eine andere mehr normale Plastiden gelangen. Das Mischungsverhältnis verschiebt sich so lange, bis endlich durch Zufall eine rein grüne oder rein weiße Zelle entsteht. Man nennt diese Entmischung von Plastiden mitotische Spaltung oder somatische Segregation (LINNERT, 1997). Der Nachweis der von BAUR (1909) hypothetisch angenommenen "Mischzellen" wurde von MICHAELIS an *Epilobium angustifolium* L. erbracht. Bei Mischzellen handelt es sich um Zellen mit unterschiedlichen Plastiden, man findet neben normalen grünen, chlorophylldefekte Plastiden. (MICHAELIS, 1961).

MICHAELIS (1961) erklärte, dass nach Plastidenmutation am Anfang des Entmischungsprozesses zwei Zelltypen gibt: eine Mischzelle und Zellen mit ausschließlich grünen Plastiden. Im Verlauf des Entmischungsprozesses entstehen Zellen mit ausschließlich mutierten oder unmutierten Plastiden. Mischzellen können dabei aufgebraucht werden oder durch Teilung neu entstehen. Aus der Größe der Entmischungsflecken kann der relative Zeitpunkt der Entmischung bestimmt werden. Je früher die Entmischung stattfindet, um so größer wird der Fleck im Laufe der Pflanzenontogenese. Die Lage des Flecks dokumentiert den Ort der Entmischung. MICHAELIS (1966) unterteilte die Musterbildung nach einer Mutation in zwei Phasen:

Latente Phase:

Nach einer Mutation nehmen die mutierten Plastiden in fortgesetzten Teilungsfolgen zahlenmäßig zu. In dieser Phase ist der Beginn der Entmischungen nur mikroskopisch zu beobachten.

Musterbildungsphase:

Viele Mischzellen mit verschiedenen Mischungsverhältnissen sind vorhanden. Es entstehen Zellen, die nur mutierte Plastiden enthalten und mutierte Gewebebereiche bilden. Die Fleckenbildung wird phänotypisch sichtbar.



Durch den Mischzellennachweis ist der Beweis erbracht, dass das unregelmäßige Muster an *Syngonium podophyllum*, *Monstera deliciosa* und den Sorten 'Pirol' und 'Luyona' von *Dendranthema grandiflorum* auf der Entmischung erbungleicher Plastiden während der Pflanzenontogenese beruht. Sowohl bei den Monocotylen als auch bei den zwei untersuchten Dicotyledonen wurde beobachtet, dass Mischzellen im Mesophyll, nicht aber in der Epidermis auftreten.

Für den Nachweis von Mischzellen ist die Unterscheidbarkeit der erblich ungleichen Chloroplasten von wesentlicher Bedeutung. Sowohl bei den Pflanzen der *Araceae* als auch der *Asteraceae*, bei denen völlig ausgebildete Blätter verwendet wurden, existieren Zellen, die Plastiden mit oder ohne Chlorophyll aufwiesen. Möglich ist, dass die mutierten Chloroplasten im Laufe der Pflanzenontogenese degenerieren. Der Nachweis echter Mischzellen wird dadurch sehr erschwert. MICHAELIS (1958) führte Untersuchungen an weißbunten Formen von *Epilobium* durch und fand, dass die Zellen wenig Chloroplasten enthielten. Er nahm an, dass die mutierten Chloroplasten zerfallen seien. Die Existenz von Mischzellen kann bei schneller Entmischung nur indirekt über benachbarte grüne und weiße Zellen nachgewiesen werden. Mischzellen können, wenn sie in pflanzlichem Gewebe vorkommen, an verschiedenen Stellen nachgewiesen werden.

Bei jungen makulaten Blättern konnten in feingescheckten Bereichen Mischzellen nachgewiesen werden. Unterschiedliche Plastiden-Typen ließen sich in jungen Blättern gut voneinander unterscheiden. Ähnliche Ergebnisse erhielt POHLHEIM (1974) bei Untersuchungen an weißbunten *Saintpaulia*-Pflanzen im Übergang von grünen zu hellen Blattbereichen mit auffallend wenigen Chloroplasten. Da dies vor allem bei älteren Blättern auftrat, liegt die Vermutung nahe, dass die mutierten Chloroplasten zerfallen sind. Dort, wo sich die Muster besonders fein gescheckt oder gestreift präsentieren, ist die Entmischung der Mischzellen noch am wenigsten fortgeschritten (POHLHEIM, 1974). Dieses Ergebnis stimmt mit den Beobachtungen von SCHÖTZ (1958) überein. Er bestätigte, dass die Möglichkeit besteht, Mischzellen in Keim- und Primärblättern bei Pflanzen, die sich im Prozess schneller Entmischung befinden, nachzuweisen. Bei einer langsamen Entmischung lassen sie sich in Kelch-, Trag-, Laub- und Keimblättern finden (HAGEMANN, 1960).

Bei der Mehrzahl der höheren Pflanzen werden die Plastiden in der mütterlichen Linie vererbt. Wenn der Prozess des 'sorting out' in dem Moment, da sich die Eizellen bilden, unvollständig ist, werden beide Typen von Plastiden in den Embryonen der Samen weitergegeben. In diesen Fällen wird der Prozess des 'sorting out' von neuem bei der

Entwicklung der Zygote in Gang gesetzt noch bevor es zur Ausdifferenzierung des Apikalmeristems kommt. Dies erhöht die Möglichkeiten, dass der Prozess vorher abgeschlossen ist und dass in den ersten Sprossen eine periklinale Chimäre erzielt wird.

In den Fällen, wo die Vererbung der Plastiden biparental ist, ist das Ergebnis das gleiche, auch wenn es in den Keimzellen zum Zustand einer Entmischung gekommen sein sollte. Wenn man Zellen mit verschiedenen Plastidentypen kombiniert, erhält man erneut eine gemischte Zygote, aus der man panaschierte Pflanzen ziehen kann. Der Prozess der Entmischung geht während der Herausbildung und der Entwicklung der Embryonen ziemlich schnell vor sich, und wenn die Menge an mutierten und normalen Plastiden ähnlich groß ist, können sich periklinale Chimären in den ersten Blättern der Sprosse bilden (TILNEY-BASSETT, 1963).

Die Ergebnisse der Bonitur nach Selbstungen der Sorten 'Pirol' und 'Luyona' von *Dendranthema grandiflorum* lassen auf eine extranucleäre Vererbung nach einer Plastommutation schließen. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse ist aber nicht eindeutig zu folgern, ob ein väterlicher, biparentaler oder mütterlicher Erbgang vorgelegen hat. Die Mehrzahl der gekeimten Pflanzen wiesen eine variegated Konstitution auf, wobei sie die instabile Konstitution der Zellen der zweiten Schicht des Sprossscheitels besaßen. BIELE (1992) bekam ähnliche Ergebnisse nach der Selbstung von einem variegated *Hippeastrum*.

Aussagen, dass der Phänotyp der geselbsteten Pflanzen die Konstitution der zweiten Sprossscheitelschicht widerspiegelt, werden durch die Ergebnisse der Selbstungen der Pflanzen mit der Konstitution GW oder GG bestätigt, von denen nur weiße oder grüne Nachkommen erzielt wurden

#### 4.1.2 Sprossscheitelstruktur und Muster

Der Mustertyp, der am Ende eines Entmischungsprozesses auftritt, ist verbunden mit der Anzahl an Schichten, die der Sprossscheitel besitzt und die an der Ausbildung der Blätter beteiligt sind. Ein anderer wichtiger Faktor ist der Grad der Plastidenentmischung, in dem sich die Pflanze befindet und speziell die Konstitution der verschiedenen Sprossscheitelschichten in dem Moment, da die Entmischung einsetzt.

SCHMIDT (1924) und BUDER (1928) unterteilten den Apex der Angiospermen in eine äußere oder Mantelzone und eine zentrale Zone (oder Korpus). Der Mantel besteht aus

einer oder mehreren Schichten von peripheren Zellen, die sich in der Mehrheit der Fälle antiklin teilen - im Unterschied zum Korpus, wo sie sich sowohl antiklin als auch periklin teilen. Die antiklinen Teilungen erlauben das oberflächige Wachstum und die verschiedenen Teilungen des Korpus erlauben ein Wachstum des Volumens. Jede der Mantelschichten stammt aus einer kleinen Gruppe von unabhängigen Zellen, die Erstzellen genannt werden. Unterhalb dieser Erstzellen des Mantels befinden sich die des Korpus (TILNEY-BASSETT, 1986). SATINA und BLAKESLEE (1940) benannten in Arbeiten mit *Datura L.* die äußere Mantelschicht der Spitze L1, die innere L2 und das Korpus L3 (L = Layer).

CUTTER (1971) so wie auch GIFFORD und CORSON (1971) klassifizierten die Sprossscheitel in 3 Grundtypen, die auf der Organisation von apikalen Sprossscheiteln nach NEWMAN (1965) beruhen:

**Der Monoplex Apex**, der charakteristisch für die Farne ist. Dieser Typ hat nur Erstzellen in der äußeren Schicht. Jedwede Teilung trägt sowohl zum Längenwachstum als auch zum seitlichen Wachstum der Pflanze bei und es wird nur eine Erstzelle benötigt.

**Der Simplex Apex**, der gewöhnlich bei den Gymnospermen vorkommt. Er besitzt ausschließlich eine einzige Zone von Erstzellen in der oberflächigen Schicht. Die antiklinen Teilungen sind nötig für das Oberflächenwachstum, die periklinen Teilungen für das Längen- und Seitenwachstum.

**Der Duplex Apex**, der gewöhnlich unter den Angiospermen vorkommt. Dieser Typ besitzt zwei aufeinandergesetzte Wachstumszonen (den Mantel und das Korpus), die ihren Ursprung in verschiedenen Gruppen von Erstzellen haben. Die verschiedenen Schichten des Mantels sind dadurch charakterisiert, dass sie in regelmäßiger Form antikline Teilungen aufweisen, während im Korpus Teilungen auf verschiedenen Ebenen beobachtet werden können.

In Übereinstimmung mit TILNEY-BASSETT (1986) ist es nötig, eine Konstitution des Typs Apex Simplex oder Apex Duplex zu haben, um stabile periklinale Chimären in einer Art erlangen zu können.

SZYMKOWIAK und SUSSEX (1996) zeigen auf, dass der Typ von Chimäre, der sich formt, und zwar sowohl in den Mosaiken, die sich von der Mischung von Zellen verschiedener Individuen her bilden als auch auf Grund von genetischen Veränderungen während des Wachstums einer individuellen Pflanze, von verschiedenen Faktoren abhängt:

Die relative Position der Zellen verschiedener genetischer Konstitutionen in den sich entwickelnden Sprossen beeinflusst nicht nur den Typ des Mosaiks, der sich formen wird, sondern auch seine Dauerhaftigkeit.

Der Typ der zellulären Organisation der Sprossscheitel spielt eine wichtige Rolle hinsichtlich des Typs von Chimäre, der sich bilden kann (STEEVES und SUSSEX, 1989). Die Mehrheit der Sprossscheitel der höheren Pflanzen besitzen multiple Erstzellen.

#### 4.1.3 Sprossscheitelentwicklung und Mustertypen

Die Bildung von Mosaiken für Studien zur Pflanzenentwicklung kann mittels unterschiedlicher Methoden erlangt werden: als Ergebnis der Kombination zweier verschiedener Pflanzentypen (Pfropfen) oder einfach als Resultat eines Wechsels in der Entwicklung eines Individuums (Mutation). Eine moderne Methode ist die Induktion von Mosaiken durch die Kultivierung von gemischten Zellen bzw. gemischtem Kallus unterschiedlicher Arten unter aseptischen Bedingungen (MARCOTRIGIANO und GOUGIN, 1984).

Wenn ein Mosaik von zwei verschiedenen Individuen abstammt, dann besteht die Möglichkeit mehrerer histogenetischer Kombinationen. Die Häufigkeit der möglichen Kombinationen ist durch die Fähigkeit der zwei verschiedenen Zelltypen, in koordinierter Form einen einzigen Sprossscheitel zu bilden, bestimmt (TIEDEMANN, 1989).

BROERTJES und KEEN (1980) entwickelten ein Modell, um den Prozess der Bildung von meristematischen Punkten an Adventivknospen zu beschreiben. Sie postulierten, dass die Bildung des meristematischen Punktes an einer Adventivknospe auf zwei verschiedene Weisen vor sich gehen kann: ausgehend von einer einzigen Epidermiszelle oder ausgehend von mehr als einer Zelle.

Der hohe Prozentsatz an panaschierten Pflanzen, den man aus der In-vitro-Kultur von Internodien bei *Dendranthema grandiflorum* (Syn. *Chrysanthemum grandiflorum*) 'Pirol' erhält, weist indirekt auf die Existenz und Teilhabe von Mischzellen als Initialzellen hin.

Es ist jedoch schwierig, eine Aussage zu treffen, ob an der Ausformung von Adventivsprossen bei 'Pirol' eine oder mehrere Zellen beteiligt sind. STEWART und DERMEN (1970) schlossen darauf, dass an der Ausformung von Adventivsprossen bei chimärischen Pflanzen von *Chrysanthemum* mehr als eine Zelle beteiligt ist.

Gewebekonkurrenz kann man in zwei verschiedene Prozesse unterteilen. Eine Form der Konkurrenz tritt zwischen zwei genetisch verschiedenen Zelltypen in der gleichen Schicht des Sprossscheitels auf, die andere findet zwischen zwei verschiedenen Sprossscheitelschichten statt (SCHNEIDER, 1996). Wenn in einer Zone aktiver Teilung in der gleichen Schicht des Sprossscheitels normale und mutierte Initialzellen auftreten, kommt es zu einem Vorgang der Konkurrenz, in dem diejenigen Zellen selektiert werden, welche größere Wettbewerbsvorteile aufweisen. Für den Fall, dass es zu einer Mutation in einem Sprossscheitel kommt und diese Zellen sich nahe der Zone aktiver Teilung befinden, ist es sehr wahrscheinlich, dass diese mutierten Zellen eine Position als Initialzellen einnehmen werden. Der Unterschied hinsichtlich des genetischen Inhaltes kann es begünstigen oder auch nicht, dass eine Zelle in dieser Position verbleibt, wobei man am Ende der histogenetischen Entwicklung Pflanzen mit genetisch verschiedenen Geweben (Periklinalchimären) oder normale homohistische Pflanzen erhält. Noch ist es nicht klar, worin die nötigen Interaktionen bestehen, damit gemischte Zellen zweier verschiedener Pflanzentypen einen Sprossscheitel ausbilden können (SZYMKOWIAK und SUSSEX, 1996).

Die 'Diplontische Selektion' kann sowohl bei der Bildung der Sprossscheitel von den Ausgangszellen aus als auch während der Ausdifferenzierung des Kallus zu Punkten des Sprossscheitels eine Rolle spielen. Theoretisch müsste man die Herausbildung von Sprossen mit verschiedenen Zellkombinationen in den verschiedenen Schichten des Sprossscheitels erwarten, aber gemäß der durchgeführten Analysen fanden sich Pflanzen mit genetisch grüner Epidermis. Übereinstimmend mit diesen Beobachtungen könnte man sich vorstellen, dass der Inhalt mutierter Plastiden im Verhältnis zu den Zellen mit normalen Plastiden ein Wettbewerbsnachteil bei der Teilhabe an der Ausbildung einer Schicht des Sprossscheitels sei. Mutierte Zellen sind in der Entwicklung oft benachteiligt; sei es, dass diese Zellen tödlich geschädigt oder dass sie nur in der Zellteilungsrate benachbarten Zellen gegenüber benachteiligt sind und dadurch verdrängt werden (SCHNEIDER, 1996). Der Zeitraum zwischen der Induktion von Kallusformung und Beginn der Ausbildung einer Sprossscheitelspitze ist wesentlich länger als bei direkter Adventivsprossbildung (Differenzierung). Infolgedessen kann bei indirekter Adventivsprossbildung

eine zeitlich längere Konkurrenz bzw. Selektion der Zellen erfolgen und somit die letztendliche Zusammensetzung des Sprossscheitels durch die unterschiedliche Vitalität der Zelltypen beeinflusst werden. Während dieser mitotischen Teilungsperiode kommt es zu einem Prozess des ‘Sorting Out’ oder der Zellselektion. Zellen, die sich schneller teilen, wie z. B. Zellen mit normalen grünen Plastiden, besitzen einen Selektionsvorteil. Die grünen Zellen besetzen das Umfeld des Kallus und haben von daher einen Positionsvorteil im Verhältnis zu den Mischzellen oder Zellen, die nur mutierte Plastiden enthalten und im Inneren des Kallus verbleiben. Im Falle der regenerierten Adventivsprosse aus Kallus ist die Position der ersten Zelle, die sich teilt, definitiv, so dass möglicherweise diese erste Zelle die Führungsposition in der Entwicklung des Sprossscheitels einnimmt (BROERTJES und VAN HARTEN, A.M., 1980). Deshalb ist es bei der Ausformung eines Sprossscheitels wahrscheinlicher, dass die grünen Zellen die L1 ausbildeten und grüne, weiße oder Mischzellen die L2.

Dieser Prozess der Neubildung eines Sprossscheitelpunktes wurde durch HUI-CHENG TIAN und MARCOTRIGIANO (1993) in ihrer Arbeit über Ursprung und Entwicklung von Adventivsprossen bei Tabak sehr gut erklärt. TIAN und MARCOTRIGIANO (1993) beobachteten an Tabak, dass von 84 chimärischen Adventivsprossen 39 sich in den drei Schichten des Sprossscheitels zu *N. tabacum* stabilisierten und nur 4 Sprosse zu *N. glauca*. Der Rest der Sprosse entwickelte sich zu periklinalen Chimären verschiedener Konstitutionen. Sie beobachteten, dass die Lage der Zellen und nicht der Genotyp einen großen Einfluss auf die Stabilisierung der Epidermis hatte. Bei ihrem Versuch stabilisierte sich die Epidermis mit Zellen des Genotyps, der ursprünglich einen Anteil von über 50% in der ersten Sprossscheitelschicht einnahm. Im Gegensatz dazu wurde die endgültige Zusammensetzung der inneren Schichten der Adventivsprosscheitel vom Vorherrschen eines Gewebes in der früheren Zellmasse nicht bestimmt. Es wurde beobachtet, dass die Veränderung der Zellen in den verschiedenen Schichten des Sprossscheitels sich unabhängig vollzog. Zum Beispiel hatte eine Epidermis zeitweilig zwar eine chimärische Konstitution, entwickelte sich aber nach Bildung weniger Nodien zu einer homogenen Epidermis. Dagegen dauerte der Prozess der Stabilisierung innerer Zellschichten wesentlich länger und führte letztlich zu der vollständigen Eliminierung eines Zell-Genotyps.

Die Ergebnisse der Selbstbestäubung von ‘Pirol’ zeigen keine größere Kombinationsbreite in den verschiedenen Schichten des Sprossscheitels, da man genetisch grüne Pflanzen

(GG), weiße (WW) und panaschierte Pflanzen (mit der Konstitution GM) erhält. Genau wie bei den Ergebnissen der Analysen von Pflanzen, die aus Adventivsprossen gezogen wurden, tritt eine genetisch grüne Epidermis sowohl bei phänotypisch grünen Pflanzen sowie auch bei denen des Typs GM auf, wobei sich die Existenz von Mischzellen auf die L2 beschränkt.

Die Dauerhaftigkeit der Initialzellen in den Sprossspitzen ist breit diskutiert worden, aber es scheint, dass die Kontinuität einer Zelle mit der Funktion der Initialzelle allein von ihrer Position im Sprossspitzen abhängt. Die Mehrheit der Pflanzen von *Monstera*, *Syngonium* und *Dendranthema* 'Pirol' zeigten und konstant über einen längeren Zeitraum ein panaschiertes Muster, wobei sich eine relative Stabilität der Mischzellen als Initialzellen erhielt. Bei den drei Typen von Pflanzen wurden Entmischungen hin zu den stabileren Konstitutionen beobachtet, wobei die häufigste Konstitution GG war und GW die seltenste. Es ist bewiesen worden, dass Zellen ersetzt werden können, wenn sie verletzt sind, weshalb anzunehmen ist, dass dieser Ersatz in der Regel von normalen Zellen vor sich geht. Es ist einzig und allein notwendig, dass einige Zellen zurückgehalten werden, damit sie den Prozess des Neubeginns übernehmen können (STEEVES und SUSSEX, 1989).

Während des fortgesetzten Wachstums gab es eine Veränderung der Position der Zellen in der Sprossspitze. Chimärenmuster können sich verändern; im allgemeinen haben diese Muster die Tendenz, nach einer Periode des Wachstums zu verschwinden; was darauf hindeutet, dass die anfänglichen Spitzenzellen nicht dauerhaft sind und dass sie durch andere Zellen in der Spitze ersetzt werden können. Diplontische Selektion trat bei den Pflanzen von *Dendranthema* 'Pirol' auf, bei denen eine bestimmte Anzahl an Blättern die Konstitution des Typs GW oder GG besaß und die später ihre panaschierte Konstitution wieder annahmen. Die spätere Panaschierung war möglich, weil in der zweiten Sprossspitzenschicht der jeweilige Zelltyp nur zeitweise in tiefere Zellschichten verdrängt wurde und später wieder in die Laubblattbildung einging.

#### 4.1.4 Histogenese nach spontaner Entmischung

Wenn man von einer Pflanze ausgeht, die drei Schichten im Sprossspitzen besitzt und eine Konstitution MMM aufweist, wobei M das Vorhandensein von Mischzellen bedeutet, kann man je nach Verlauf der Entmischung theoretisch 27 verschiedene Musterkombinationen

erlangen. Von diesen besitzen 24 einen Typ chimärischer Konstitution und die Formen, die wenigstens eine oder mehrere Schichten vom Typ M besitzen, sind nicht völlig stabil (TILNEY-BASSETT, 1963; 1986).

Von geringerer Bedeutung bezüglich des Mustertyps, der aus einer Entmischung stammt, sind die Pflanzen, welche lediglich zwei Sprossscheitelschichten besitzen, wenn sich die L1 nicht an der Mesophyllbildung des Laubblattes beteiligt. Ebenso wie im Falle der Pflanzen, die drei Schichten besitzen, haben von den 8 möglichen Kombinationstypen nur 6 eine chimärische Konstitution und von diesen sind nur zwei teilweise stabil (TILNEY-BASSETT, 1963; 1986).

Die Hypothese, dass nach einem Prozess der Entmischung bei *Syngonium podophyllum*, *Monstera deliciosa* und den zwei Chrysanthemensorten ‘Luyona’ und ‘Pirol’ Klone mit einem andersfarbigen Binnenfeld entstehen würden, hat sich nicht bestätigt. In histologischen Analysen, sowohl bei den beiden Chrysanthemensorten ‘Luyona’ und ‘Pirol’ als auch bei beiden *Araceae*-Arten zeigten sich Achselknospen und Sprossscheitel mit nur zwei selbständigen Schichten.

Wenn diese histologischen Ergebnisse mit dem Ergebnis der Entmischungsprozesse in Verbindung gebracht werden, lässt sich erkennen, dass die Epidermis von der ersten Schicht des Sprossscheitels stammt und das Mesophyll sich in seiner Gesamtheit aus der zweiten Schicht entwickelt. Diese Annahme wird dadurch gestützt, dass man keine Pflanzen erhält, die ein weißes oder grünes Binnenfeld haben, sondern nur Pflanzen, die völlig grün sind oder Periklinalchimären der Konstitution GW.

Es ist theoretisch möglich, von diesen Pflanzen sechs Typen chimärischer Konstitution zu erlangen, aber die Resultate bei *S. podophyllum*, *M. deliciosa* stimmen nicht mit einem Pflanzenmuster überein, das als Ausgangskonstitution MM aufgewiesen hätte. Pflanzen, die völlig grün oder weiß sind, aber eine Epidermis mit chlorophyllhaltigen Plastiden besitzen, deuten darauf hin, dass die Ursprungspflanzen eine Konstitution GM hatten. Somit lassen sich die erlangten Ergebnisse interpretieren. Eben diese Erklärung kann auch auf *Dendranthema* angewendet werden, wo sich auch auf Grund der Konstitution der Ursprungspflanze der Mustertyp nach dem Prozess der Entmischung auf zwei mögliche Typen - GG oder GW - beschränkt.



#### 4.1.5 L1 und Bildung des Mesophylls

Eine andere Möglichkeit, ein farblich abgegrenztes Binnenfeld in einer Periklinalchimäre zu finden, ist durch die Beteiligung der L1 an der Bildung des Mesophylls gegeben. Dieses Phänomen wurde hauptsächlich bei den Monokotylen und einigen Dicotyledonen beobachtet. Das Vorhandensein von mindestens drei Sprossscheitelschichten ist dabei für die Musterbildung nicht notwendig, denn viele Pflanzen, die dieses Phänomen aufweisen, besitzen nur 2 Sprossscheitelschichten.

*Syngonium podophyllum* war das einzige der untersuchten Objekte mit einer chimärischen Konstitution GW, das eine Beteiligung der L1 bei der Ausbildung des Mesophylls aufwies. Diese Pflanzen besitzen eine Epidermis, die Chloroplasten produziert, aber der Rest des Mesophylls zeigt Chlorophylldefekte. Es bildet sich kein regelmäßiger grüner Rand, sondern es finden sich nur isolierte Fragmente von grünem Mesophyll an den Blatträndern.

Die andere mögliche Musterkombination, eine Pflanze mit weißem Rand, wurde an keiner der untersuchten Pflanzen beobachtet. Nach der Regeneration eines Scheitels aus Kallus, der aus Mischzellen besteht, können in der weiteren Entwicklung weiße Zellen entstehen, die auch in L1 gelangen. Bei der In-vitro-Kultur von Internodien von 'Pirol' entstanden Pflanzen, die eine Konstitution WW oder MW aufwiesen, aber es konnte noch keine Pflanzen mit einer Konstitution WG beobachtet werden.

## 4.2 Diskussion zur Problematik 'Immerspaltende Periklinalchimären'

### 4.2.1 *Spiraea bumalda* 'Goldflame'

Regelmäßig entstehende grüne Sprosssektoren, die sich über mehrere Internodien hinweg verfolgen lassen, sind Hinweise bezüglich der Annahme, dass die Panaschierung von *Spiraea bumalda* 'Goldflame' bereits am Sprossscheitel erfolgt und nicht durch Teilungen der L1-Derivate bei der Blattentwicklung zustande kommt. Diese Aussage stimmt mit den Studien überein, die durch POHLHEIM (1971) bei der immerspaltenden Periklinalchimäre *Spiraea bumalda* 'Anthony Waterer' durchgeführt wurden.

Das geringfügige Auftreten von grünen Sektoren bei 'Goldflame' (61/393) stimmt nicht überein mit der größeren Anzahl an Sprossen mit einem weißen Sektor (694/1000), die von

POHLHEIM (1971) bei 'Anthony Waterer' dokumentiert wurde. Außerdem traten völlig weiße Sprosse auf (106/1000) - ein Ergebnis, dass bei den Pflanzen von 'Goldflame' (grüne Sprosse) nicht beobachtet wurde. Wenn auch die Bildung von grünen Sektoren bei 'Goldflame' seltener ist, kann man eine Verschiebung der Zellen der ersten Schicht des Sprossscheitels und insofern das Auftreten eines völlig grünen Sprosses nicht ausschließen.

Die Analyse der Längsschnittserien und das Auffinden perikliner Teilungen in L1 von 'Goldflame' bestätigten, dass die grünen Sektoren ihren Ursprung definitiv im Sprossscheitel oder in den Achselknospen und nicht in einem späteren Entwicklungsstadium des Blattes haben. Ein Grund für dieses Phänomen kann durch die durchgeführten Studien von WEGNER (1998) bei Periklinalchimären der Konstitution GWG erklärt werden. Er zog den Schluss, dass der Druck, den die inneren Schichten des Sprossscheitels auf die äußeren Schichten bei dem Auftauchen einer periklinen Teilung und daher bei der Teilnahme dieser Schichten an der Herausbildung des Mesophyll ausüben, außerordentlich wichtig ist.

Die Induktion von Austrieben aus Wurzeln dient als Beweis und Entmischungsmethode im Falle von chimärischen Pflanzen. Die Wurzelastriebe geben Information über die genetische Beschaffenheit des subepidermalen Gewebes (L2 oder L3) je nach Konstitution des Sprossscheitels. Resultate, die mit dem modifizierten Wurzelfreilegungsversuch erzielt wurden, verdeutlichen den chimärischen Bau GA (Grün/Aurea) von *Spiraea bumalda* 'Goldflame'. Alle Wurzelastriebe zeigten die Aurea-Farbe als charakteristisches Merkmal L2-bürtigen Gewebes. Da keiner der mit dieser Methode erlangten Austriebe weder sofort noch im weiteren Verlauf des Wachstums grüne Sprossektoren zeigte, lässt sich die Stabilität der Aufspaltung bestätigen.

In-vitro-Regenerate aus Kalluskultur von *Spiraea bumalda* 'Goldflame' entstammten ausnahmslos dem subepidermalen Gewebe, obschon dort ein geringer Prozentsatz an grünen Pflanzen auftrat, was aber unter Punkt 4.6.2 diskutiert werden soll.

#### 4.2.1.1 In-vitro-Kultur und somaklonale Variabilität bei *Spiraea bumalda* 'Goldflame'

Seit vielen Jahren ist bekannt, dass die aseptischen Kulturen, speziell die Kulturen mit Kalli, freien Zellen und Protoplasten, Nachkommenschaften hervorbringen, die sich beträchtlich vom Ausgangsmaterial unterscheiden (KRIKORIAN, 1991). Es ist nachge-

wiesen, dass sich genetische Variationen in den Zellen und Geweben, die in vitro vermehrt werden, ereignen. Viele dieser Variationen zeigen sich an den regenerierten Pflanzen als vererbare Mutationen. Dieses Phänomen ist als somaklonale Variabilität bekannt (LARKIN und SCOWCROFT, 1981).

Die durchgeführten Beobachtungen zeigen auf, dass diese Variabilität, die sich an den regenerierten Pflanzen zeigt, zum einen aus den genetischen Differenzen resultiert, die vorab in den somatischen Zellen des Explantates existieren. Zum anderen wird Variabilität durch den Einfluss der Komponenten des Nährmediums auf Zellen induziert (TABARES, PACHON und ROCA, 1991).

TABARES, PACHON und ROCA (1991) weisen darauf hin, dass der Ursprung der Variabilität nicht immer klar ist und von Pflanze zu Pflanze unterschiedlich sein kann. Sie betrachten die chromosomale Reorganisierung als den Hauptmechanismus, der die somaklonale Variabilität hervorbringt und geben als mögliche Gründe für ihr Auftreten ein somatisches Crossing over an, abwechselnd mit Schwesterchromatiden, einer Überhöhung der Nukleotide durch Methylierung oder eine Störung in der Replikation der DNA durch Verschulden eines Gendepots, das durch Mutationen in nicht kodifizierten Regionen zustande gekommen ist.

Gegenwärtig wird argumentiert, dass die einzige Strategie, um die genotypische Stabilität der in vitro erzeugten Pflanzen erhalten zu können, die Nutzung von Explantaten mit organisierten Strukturen ist (KRIKORIAN, 1991). Andererseits wird somaklonale Variabilität nicht ausschließlich negativ betrachtet, insofern sie eine sehr wichtige Rolle bei den Zuchtprogrammen von Pflanzen spielt, weil dadurch das Variabilitätsniveau erhöht bzw. sichtbar gemacht werden kann.

Die Mehrzahl der Variationen bei aus Kallus regenerierten Pflanzen wird den genetischen Modifikationen der Zellen des genutzten Pflanzenexplantats zugeordnet. Variationen der Größe oder Form des Blattes, Länge der Knospen oder der Zweige sind typisch für Pflanzen, bei denen eine Veränderung auf der chromosomalen Ebene stattgefunden hat (TABARES, PACHON und ROCA; 1991). Die an 'Goldflame' erlangten Ergebnisse stimmen mit diesen Beobachtungen überein, insofern die Pflanzen solche Variationen zeigten.

#### 4.2.1.2 Von L1 abstammendes Mesophyll

Die Variationen in den regenerierten Pflanzen sind nicht immer den Veränderungen im genetischen Material der Pflanzenexplantate vor oder während der In-vitro-Kultur geschuldet. Die Herkunft oder der Zustand des Pflanzenexplantats spielt eine wichtige Rolle bezüglich des Niveaus oder Typs der Variabilität, die man bei den regenerierten Pflanzen beobachten kann. Speziell muss man sorgfältig mit Chimären umgehen, insofern das Vorhandensein von Geweben verschiedener genetischer Konstitution die Unterscheidung zwischen somaklonaler Variabilität und dem Prozess der Entmischung erschwert.

Obschon bezüglich der Sprossinduktion aus Kalli bei 'Goldflame' beachtet wurde, dass nur Blätter verwendet wurden, die keine grünen Sektoren aufwiesen, traten Pflanzen auf, die phänotypisch 'Goldflame' ähnelten, aber völlig grün waren. Es wird die Möglichkeit verworfen, dass die Kalluszellen sich aus Epidermiszellen entwickeln konnten, weil histologische Studien zeigten, dass diese dem Mesophyll und nicht der Epidermis entstammen. Die einzige logische Erklärung dieser Resultate ist Kallusregeneration aus L1-bürtigen Mesophyllzellen. Diese Argumentation stützt sich auf die Ergebnisse, die sowohl aus der Musteranalyse als auch aus den histologischen Studien an apikalen und axillaren Sprossen bzw. Sprossspitzen resultieren.

#### 4.2.2 *Spiraea bumalda* 'Shirobana'

Bei *Spiraea bumalda* 'Shirobana' dominieren in der Zeit der Blüte die weißen Blüten, aber es ist normal, Blüten mit roten Sektoren auf den Petalen zu finden oder Pflanzen, an deren Dolden einige oder auch alle Blüten rot sind. Eine mögliche Erklärung für diesen nicht definierten Mustertyp wäre die Chimärentheorie unter der Voraussetzung, dass in L1 regelmäßig perikline Teilungen wie bei 'Goldflame' und 'Anthony Waterer' stattfinden. Den Beobachtungen zufolge produziert L1-bürtiges Gewebe (Epidermen) Anthocyan, L2-bürtige Gewebe zeigen kein Anthocyan. Wenn das Entstehen der Rotsports mit der L1-Reduplikation zusammenhängt und die weiße Ausgangsform rot über weiß konstituiert ist, müsste nach dieser Hypothese die L2 die Produktion von Anthocyan in der ersten Schicht, hemmen, was das Vorherrschen weißer Blüten erklären würde. Dieses Phänomen müsste als negative Partnerinduktion interpretiert werden. Wenn man das vorstehend Gesagte in Rechnung stellt, wird man die Dolden mit roten Blüten als Resultat einer Teilnahme der

ersten Schicht an der Ausbildung des Mesophylls erklären können, so dass dadurch der hemmende Effekt der L2 aufgehoben wird.

Die Analysen der Längsschnitte durch Sprossspitze und Achselknospen stützen die Theorie einer Teilhabe der ersten Schicht bei der Ausbildung des Mesophylls bei neuen Sprossen, Blättern und später bei der Bildung der Blüten. Unter der Annahme, dass *Spiraea bumalda* 'Shirobana' eine Chimäre wäre, könnte so das Auftauchen von Sektoren und Dolden mit vollkommen roten Blüten erklärt werden.

Diese Hypothese muss jedoch verworfen werden angesichts der Färbung der Blüten bei Pflanzen, die aus der Wurzel gezogen wurden. Bei diesen Pflanzen traten Dolden mit weißen und roten Blüten auf sowie auch solche mit ausschließlich weißen oder roten, letztere jedoch weniger häufig. Bei einer anthocyandefekten L1 hätten die Wurzelaustriebe einheitlich weiß blühen müssen. Wenn man die Ergebnisse anderen Zeugnissen gegenüberstellt, tritt das gleiche Blütenmuster auf, so dass daraus hervorgeht, dass *Spiraea bumalda* 'Shirobana' primär keine Chimäre ist und dass das auftretende Muster genetisch kontrolliert ist. Diese Möglichkeit wurde schon durch OLBRICHT (1998) in Rechnung gestellt, der aus Gründen fehlender Analysen nicht klären konnte, warum die roten Sektoren bei 'Shirobana' auftraten. OLBRICHT (1998) erwähnt, dass die irregulären Farbveränderungen ein Anzeichen für Instabilität in den Farbgenen seien, das heißt, dass die Ausdrucksform der Gene sich ändern würde. Er fährt fort und erwähnt verschiedene Ursachen für diese Instabilität: Methylierungsvorgänge (MEYER et al., 1992), transponible Elemente (CORNU und FARCY, 1994), instabile Allelzustände (BIANCHI et al., 1978/ FARCY und CORNU, 1979, EPPERSON und CLEGG, 1992) oder andere Inaktivierungsprozesse.

### 4.3 Diskussion zur Problematik Hypoderm und Beeinflussung der Musterbildung

#### 4.3.1 *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’

BIELE (1992) versuchte, den Anteil des weißen Gewebes bei der Herausbildung des Blattes zu erklären, indem er Messungen des Prozentsatzes des weißen Gewebes und den Ort seines Auftauchens ins Verhältnis zueinander setzte. Es wurde angenommen, dass in frühen Stadien der Blattentwicklung die L3 eine größere Rolle bei der Herausbildung des Mesophyll spielt, und sie dann in der Fortfolge eine immer geringere bis keine Rolle mehr spielt. Obschon es BIELE nicht direkt angibt, sind diese Phänomene den Chimären eigen, bei denen es Gewebekonkurrenz gibt. Dieser Terminus wird benutzt, um die Konkurrenz zwischen zwei Geweben zu kennzeichnen. Im Falle der Chimären kommt es zu dieser Konkurrenz im allgemeinen bei Geweben verschiedener genetischer Konstitution.

Als abschließender Beweis des vorher über die chimärische Konstitution der *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’ und im allgemeinen über die Periklinalchimären der Konstitution GGW Gesagten ist die Entwicklung der homohistischen grünen Pflanze (GGG) anzusehen. Dies kann man der Verdrängung der L3 durch eine Verdoppelung der L1 oder L2 zurechnen.

Wenn man junge Blätter beobachtet, weisen sie eine grünliche Färbung im Binnenfeld auf, so dass man den Eindruck gewinnt, als würde in frühen Stadien der Blattentwicklung das Binnenfeld durch eine oder mehrere Schichten von grünen Zellen bedeckt sein, die von L2 stammen. Im Blattquerschnitt ist zu sehen, dass die mutierten Plastiden im L3-bürtigen Gewebe in dieser Phase noch Spuren von Chlorophyll enthalten. In der weiteren Entwicklung wird von diesen Plastiden kein Chlorophyll mehr gebildet.

Aus der ersten Schicht des Sprossscheitels (L1) entwickelt sich einzig die Epidermis (G). Sowohl das Hypoderm (blattoberseits und -unterseits) als auch das Randmesophyll sind L2-bürtig. L1 und L2 sind genetisch grün, aus der L3 stammt einzig das weiße Gewebe oder Binnenfeld. Dieses Gewebe ist blattoberseits und -unterseits durch keine Schicht von grünen Zellen bedeckt. Da das Binnenfeld völlig unbedeckt ist, wird dort ein intensives Weiß beobachtet. In Übereinstimmung mit dem vorher Gesagten kann man *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’ als eine Periklinalchimäre der Konstitution GGW mit unmaskiertem Binnenfeld klassifizieren.

#### 4.3.2 *Ctenanthe oppenheimiana* ‘Tricolor’

*Ctenanthe oppenheimiana* weist abwechselnd grüne und silberfarbige Streifen auf der Blattspreite auf, was typisch für diese Pflanze ist. Dieses Muster ist genetisch kontrolliert und entspricht möglicherweise dem positionalen Sinus (MARCOTRIGIANO, 1997). Im Allgemeinen stellt es sich als eine Trennung zwischen den Zellen der Epidermis und dem Mesophyll dar, so dass es zu einem freien Raum kommt, der einer Blase ähnelt, weshalb es unter dem Namen LEAF BLISTER (MARCOTRIGIANO, 1997) bekannt ist. Histologischen Analysen zufolge geht dieses Muster auf die Position der Palisadenzellen zurück, wobei die Zellen nicht völlig dicht eine an der anderen angeordnet sind, sondern so, dass freier Raum zwischen ihnen vorhanden ist. Die Trennung zwischen der Epidermis und grünem Mesophyll ist eine indirekte, insofern sich das Hypoderm zwischen beiden befindet und diese Trennung physisch zum Ausdruck bringt, aber den gleichen Effekt erzielt.

Übereinstimmend mit den Analysen der Stomata bei *Ctenanthe oppenheimiana* ‘Tricolor’ wird die Epidermis als genetisch grün charakterisiert, wonach dann die L1 grün ist. Das Hypoderm, das sich direkt unter der Epidermis befindet, stammt von L2. Der weiße Teil des Mesophylls stammt ebenfalls von L2 ab. Grüne Randflecken im weißen Mesophyll deuten auf eine Mesophyllbeteiligung der L1 hin. Anhand der Musteranalyse von verschiedenen Familien von Monokotyledonen zeigte BIELE (1992) das Auftreten solcher grünen Flecken im Mesophyll von Mesochimären der Konstitution GWG bei *Ananas comosus* ‘Variegatus’ (Bromeliaceae) und *Alpinia sanderae* hort. SANDER (Zingiberaceae). Bei beiden Pflanzen ist blattoberseits und -unterseits eine Hypodermis vorhanden, die das weiße Gewebe vollständig von der Epidermis trennt. Er erklärte die Musterung folgendermaßen: die Gesamtheit des Zentralgewebes wird durch L3 hervorgebracht, während dessen die L2 das weiße Gewebe der Blattränder und das Hypoderm bildet. Grüne Flecken sind das Resultat perikliner Teilungen in einem frühen Entwicklungsstadium des Blattes, d.h. L1-bürtig.

Diese Erklärung ist auf jeden Fall konfliktträchtig, denn wie soll es möglich sein, dass ein Mesophyll, das angenommenermaßen seinen Ursprung in einer Verdoppelung der Epidermis hat, völlig durch ein Gewebe isoliert wird, das L2-bürtig ist? Um dieses Phänomen zu erklären, können drei Hypothesen aufgestellt werden:

### Hypothese 1:

Das Hypoderm ist L1-bürtig.

Damit die Erklärung von BIELE logisch wäre, müsste das Hypoderm L1-bürtig sein und in frühen Entwicklungsstadien eine perikline Teilung der Epidermis auftreten, wobei dadurch ein Teil des Mesophylls entsteht. In zeitlich späterer Folge müsste sich danach das Hypoderm entwickeln, wodurch sich erklärt, dass die grünen Flecken des Mesophylls keinen direkten Kontakt zur Epidermis haben. In Übereinstimmung mit PRAY (1957) ist dies nicht möglich, weil die Teilhabe der L1 bei der Ausbildung des Mesophylls für *Marantha* nicht typisch ist. Obschon es nicht das Ziel dieser Arbeit ist, den Ursprung des Hypoderms zu bestimmen, wurden bei den histologischen Analysen, die an den Achselknospen durchgeführt wurden, keine periklinen Teilungen beobachtet, die auf eine Instabilität der L1 hinwiesen.

### Hypothese 2:

Das Hypoderm entspringt einer unabhängigen Schicht der Achselknospe bzw. des Sprossscheitels, das heißt, es ist L2-bürtig. Wenn die Achselknospen analysiert werden, kann man nur drei verschiedene Schichten beobachten, die an der Herausbildung des Blattes teilhaben. Diese Hypothese kann nicht aufrecht erhalten werden, da vier unabhängige Scheitelschichten in das Laubblatt eingehen müssten.

### Hypothese 3:

Die Flecken sind das Resultat der Gewebekonkurrenz zwischen L2 und L3.

Durch Konkurrenz bei der frühen Ausbildung des Blattes werden einige Zellen der L2 durch Zellen der L3 verdrängt. Auf Grund der Tatsache, dass das erste Blattwachstum der Länge nach erfolgt, wird an den Rändern ein grüner Streifen ausgebildet, der vom grünen Mesophyll durch weiße Zellen isoliert ist, die sich sowohl antiklin als auch periklin teilen. Auf diese Art können diese Flecken als L3-bürtig und *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor' als eine periklinale Chimäre GWG klassifiziert werden



#### 4.3.3 *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’

In Übereinstimmung mit den histologischen Analysen besitzt ‘Goldflimmer’ einen Sprossscheitel mit drei unabhängigen Schichten, die an der Ausbildung von seitlichen Sprossscheiteln und neuen Blättern teilhaben. Es wurde keine Art von perikliner Teilung beobachtet, weshalb man annehmen kann, dass die L1 nur an der Ausbildung der Epidermis beteiligt ist. Wenn man zugrunde legt, dass sich in den Plastiden der Stomata Chlorophyll befindet, dann kann man daraus schließen, dass die Epidermis und daher die L1 genetisch grün sind. Verfolgt man dieses Muster, so stammt das genetisch weiße Gewebe, das das Binnenfeld ausformt, aus der L3. Von der L2 ausgehend entwickeln sich das Mesophyll der Ränder sowie auch eine oder mehrere grüne Zellschichten, die sich zwischen der unteren Epidermis und dem zentralen Mesophyll befinden.

Das Hypoderm, das sich nur auf der oberen Blattseite findet, ist L2-bürtig. Genau so wie bei *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’ bleibt durch die Position des Hypoderms das Binnenfeld unmaskiert. Im Unterschied zu *C. lubbersiana* zeigt sich das Binnenfeld nicht völlig weiß, sondern ist vielmehr von gelber Farbe, was auf die Schicht von grünen Zellen, die sich unter dem Binnenfeld befindet, zurückgeht.

Die Entwicklung von Verzweigungen, die homohistisch grün sind (GGG), zeigt die chimärische Konstitution der *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’. Wie bei *Ctenanthe lubbersiana* ‘Variegata’ kann man das Ergebnis aus der Verdrängung der L3 durch Verdoppelung der L1 oder L2 erklären. In Übereinstimmung mit den durchgeführten Analysen kann man auch darauf schließen, dass die *Rhododendron*-Hybride ‘Goldflimmer’ eine periklinale Chimäre der Konstitution GGW mit unmaskiertem Binnenfeld ist.

#### 4.3.4 *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’

Auf der Grundlage der an *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’ erhaltenen Resultate kann man ihn durch sein Blattmuster genau wie *Ctenanthe oppenheimiana* ‘Tricolor’ als Weißrandform einordnen. Das bedeutet, dass es in der L2 zu einer Mutation kam, die einen Chlorophylldefekt im Blatt erzeugt. Diese Schicht umgrenzt das zentrale grüne Mesophyll (L3-bürtig) vollkommen und formt damit die Ränder des Blattes aus.

Bei Gelegenheit besetzen die grünen Zellen durch Perforation den Platz der weißen Zellen, wodurch es zu einer intensiven Grünfärbung kommt. Die Epidermis stammt völlig aus der L1, da die Stomazellen chlorophyllhaltige Plastiden aufweisen. *Rhododendron simsii* ‘Andenken an Vater Hedusch’ hat im Unterschied zu *Ctenanthe oppenheimiana* ‘Tricolor’ kein Hypoderm, weshalb die grünen Sektoren, die im Randmesophyll beobachtet werden, einen direkten Kontakt zur Epidermis haben, so dass man ihre Entstehung periklinen Teilungen zuordnen kann. Bei Gelegenheit ist die Teilhabe der L1 bei der Herausbildung des Mesophylls so intensiv, dass sie völlig das weiße Mesophyll ersetzt und Blätter mit vollkommen grünen Sektoren hervorbringt.

## 5 Zusammenfassung

Mit der vorliegenden Arbeit soll der Ursprung, die Entwicklung und die Formierung von Laubblatt-Mustern erklärt werden, die sich an ausgewählten Formen der *Araceae*, *Asteraceae*, *Ericaceae*, *Marantaceae* und *Rosaceae* finden. Gegenstand meiner Untersuchungen waren vor allem variegated Pflanzen, die aus genetisch verschiedenem Gewebe bestehen (Heterohistonten oder Chimären). Von Bedeutung für die Wahl der Objekte war, dass für die verschiedenen Musterungen mindestens ein Vertreter der Mono- bzw. Dicotyledonen zur Verfügung stand. Die Pflanzen wurden je nach Problematik untersucht und in drei verschiedene Gruppen eingeteilt:

### 1. Blattmuster mit unregelmäßiger makulater Musterung

Das unregelmäßige Muster an *Syngonium podophyllum* 'Variegata', *Monstera deliciosa* 'Variegata' und die Sorten 'Pirol' und 'Luyona' von *Dendranthema grandiflorum* beruht auf der Entmischung erbungleicher Plastiden während der Pflanzenontogenese.

Mischzellen wurden durch direkte (mikroskopisch) und indirekte (In-vitro-Kultur und Selbstungen) Methoden nachgewiesen. Anhand der Adventivsprossinduktion von Internodien der Sorte 'Pirol' wurde eine vegetative Aufspaltung in grüne, weiße und variegated Nachkommen beobachtet. Aus *Syngonium* regenerierten nur grüne und weiße Sprosse. Selbstungen der Sorten 'Pirol' und 'Luyona' ergaben eine Nachkommenschaft von grünen, weißen und variegated Pflanzen.

Nach der Plastidenentmischung in den Schichten des Sprossmeristems wurde bei *Syngonium*, *Monstera* und den zwei Sorten von *Dendranthema* die GW-Form (Grün über Weiß) als einzige stabile Periklinalchimäre nachgewiesen. Histologische Untersuchungen der Struktur des Sprossscheitels zeigten, dass im Sprossscheitel dieser Pflanzen nur zwei voneinander unabhängige Schichten existieren und in das Laubblatt eingehen. In der Regel bildet die L1 nur die Epidermis und die L2 das gesamte Mesophyll. Damit lässt sich das Fehlen von Weißrand- und Weißkernperiklinalchimären in dieser Pflanzengruppe erklären.

### 2. 'Immerspaltende Periklinalchimären'

Die chimärische Konstitution GA (Grün über Aurea) bei *Spiraea bumalda* 'Goldflame' konnte durch Wurzelaustriebe (BATESON-Test) und die Adventivsprossinduktion aus Kallus nachgewiesen werden. Alle Regenerate und ihre neue Sprosse hatten ausnahmslos nur hellgrüne Blätter (Farbe der Innenkomponente), dagegen entstanden an den

Kontrollpflanzen regelmäßig grüne Sprosssektoren.

Sprossscheiteluntersuchungen zeigten nur zwei voneinander unabhängige Schichten, die in das Laubblatt eingehen. Darüber hinaus konnten mehrfach perikline Aufspaltungen der ersten Sprossscheitelschicht (Reduplikation von L1) nachgewiesen werden, die zur Entstehung der Panaschierung von 'Goldflame' zur Entmischung der chimärischen Konstitution GA zu GG (Grün über Grün) führten.

Bei den Untersuchungen der In-vitro-Regenerate aus der Kalluskultur und der Wurzelaustriebe an *S. bumalda* 'Shiobana' wurde festgestellt, dass diese Pflanze keine Chimäre ist und das auftretende Muster der Blüten genetisch kontrolliert ist. Es gab keinen Unterschied zwischen dem Blütentyp (weiß-rot) der Wurzelaustriebe, der In-vitro-Pflanzen und der Kontrolle.

### **3. Hypoderm und Beeinflussung der Musterbildung**

Die unmaskierten Binnenfelder bei *Ctenanthe lubbersiana* 'Variegata' und der *Rhododendron*-Hybride 'Goldflimmer' sind durch die Existenz eines Hypoderms zu erklären. Bei *C. lubbersiana* 'Variegata' befindet sich ein Hypoderm an der Blattoberseite und der Blattunterseite. Bei 'Goldflimmer' liegt nur unter der oberen Epidermis ein einschichtiges Hypoderm vor. Infolgedessen fehlt an der Blattoberseite die Maskierung. Das gelbe Binnenfeld des Blattmusters ist durch eine grüne Mesophyllschicht unterlagert.

Mit diesen Untersuchungen konnte erstmals für eine variegatede monokotyle Angiosperme bei Vorliegen der Chimärenkonstitution GGW (Grün-Grün-Weiß) ein Muster mit unmaskiertem Binnenfeld durch Hypodermbildung nachgewiesen werden.

Anhand mikroskopischer Untersuchungen werden *Rhododendron simsii* 'Andenken an Vater Hedusch' und *Ctenanthe oppenheimiana* 'Tricolor' als Weißrandform mit Chlorophylldefekt in L2 nachgewiesen. 'Andenken an Vater Hedusch' hat kein Hypoderm, weshalb die grünen Sektoren, die im Randmesophyll beobachtet wurden, einen direkten Kontakt zur Epidermis haben, so dass man ihre Entstehung periklinen Teilungen der L1 zuordnen kann. 'Tricolor' besitzt ein Hypoderm, deswegen haben grüne Randbereiche keinen Kontakt zur Epidermis.

Mikroskopische Untersuchungen der Sprossspitzen aller Vertreter dieser Gruppe zeigten im medianen Längsschnitt drei unabhängige Scheitelschichten, die sich an der Blattbildung beteiligen.

## 6 Literaturverzeichnis

- BÄRTELS, A. (1989). Farbatlas Tropenpflanzen: Zier- und Nutzpflanzen (1. Aufl.). Stuttgart: Ulmer.
- BATESON, W. (1916). Root-cuttings, chimaeras and 'sports'. *Journ. Genet.*, 6, 75-80.
- BAUR, E. (1909). Das Wesen und die Erblchkeitsverhältnisse der "*Varietates albomarginatae* hort." von *Pelargonium zonale*. *Zeitschr. f. Indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre*, 1, 330-351.
- BAUR, E. (1930). Einführung in die Vererbungslehre (7. Aufl.). Berlin: Borntraeger.
- BERGANN, F. (1955). Einige Konsequenzen der Chimärenforschung für die Pflanzenzüchtung. *Zeitschr. f. Pflanzenzüchtung*, 34 (2), 113-124.
- BERGANN, F. (1961a). Eine weitere Trichimäre bei *Euphorbia pulcherrima* WILLD. *Biol. Zbl.*, 80, 403-412.
- BERGANN, F. (1961b). Über zwischenzellige Genwirkungen (Partnerinduktion) bei der Pigmentbildung in den Brakteen der Periklinalchimäre *Euphorbia pulcherrima* WILLD, 'Eckes Rosa'. *Ber. deutsch. bot. Ges.*, 73, 40-41.
- BERGANN, F. (1962). Über den Nachweis zwischenzelliger Genwirkungen (Partnerinduktion) bei der Pigmentbildung in den Brakteen der Periklinalchimäre *Euphorbia pulcherrima* WILLD 'Eckes Rosa'. *Biol. Zbl.*, 81, 469-503.
- BERGANN, F. und BERGANN, L. (1983a). Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermienblattes: 2. Über die Blattmusterbildung bei meso- und diektochimärischen Formen von *Peperomia*-Arten, insbesondere über die Beteiligung des 'Dermatogens' an der Mesophyllbildung. *Biol. Zbl.*, 1024, 403-429.
- BERGANN, F. und BERGANN, L. (1983b). Zur Entwicklungsgeschichte des Angiospermienblattes: 3. Über unmaskierte Binnenfelder in den Blattspreiten periklinalchimärischer Buntheiten von *Eleagnus pungens*, *Coprosma baueri*, *Ilex aquifolium*, *Hoya carnosa* und *Nerium oleander*. *Biol. Zbl.*, 1026, 657-673.
- BIANCHI, F., CORNELISSEN, P., GERATS, A. und HOGERVOSRST, J. (1978). Regulation of gene action in *Petunia hybrida*: Unstable alleles of a gene flower colour. *TAG.*, 53 (4), 157- 167
- BIELE, R. (1992). Untersuchungen zur Klassifizierung von Variegationsmustern bei heterohistischen Monocotylen. Unveröff. Dissertation, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Pflanzenzüchtung.
- BROERTJES, C. und KEEN, A. (1980). Adventitious shoots: Do they develop from one cell? *Euphytica*, 29, 73-87.
- BROERTJES, C. und VAN HARTEN, A.M. (1984). Single cell origin of adventitious buds. *Euphytica*, 34, 93-95.
- BUDER, J. (1928). Der Bau des phanerogamen Sproßvegetationspunktes und seine Bedeutung für die Chimärentheorie. *Ber. deutsch. bot. Ges.*, 46, 20-21.

- CHITTENDEN, R.J. (1926). Studies in variegation II. *Hydrangea* and *Pelargonium*: with notes on certain chimerical arrangements which involves sterility. *Journ. Genet.*, 16, 43-61.
- CHITTENDEN, R.J. (1927). Vegetative segregation. *Bibliogr. Genet.*, 3, 355-442.
- COFFIN, R., TAPER, C.D. und CHONG, C. (1976). Sorbitol and sucrose as a carbon source for callus culture of some species of the Rosaceae. *Can. J. Bot.*, 54, 547-551.
- CORRENS, C. (1909). Vererbungsversuche mit blass (gelb) grünen und buntblättrigen Sippen bei *Mirabilis*, *Urtica* und *Lumaria*. *Zschr. f. Abst. U. Vererbungslehre*, 1, 291-329.
- CUTTER, E. G. (1971). Plant anatomy: Experiment und Interpretation Part 2. Organs. London: Arnold.
- DU VINAGE. (1989). Musteranalysen an weißbunten Vertretern von *Crassula lactea*, *Chlorophytum comosum*, *Rhodea japonica* und *Ophiopogon jaburan*. Unveröff. Diplomarbeit, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG. Pflanzenzüchtung.
- EPPERSON, B. K und CLEGG, M.T. (1992). Unstable white flower colour genes and their derivatives in the morning glory. *The journal of heredity*, 83 (6), 405.
- FARCY, E. und CORNU, A. (1979). Isolation and characterization of anthocyanin variants originating from the unstable system an 2-1 in *Petunia hybrida*. *TAG.*, 55 (6), 273-278.
- FOOSHEE, W. C. und HENNY, R.J. (1990). Chlorophyll levels and anatomy of variegated and nonvariegated areas of *Aglaonema nitidum* leaves. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 103, 170-172.
- GIFFORD, E. M. und CORSON G. E. (1971). The shoot apex in seed plants. *Bot. Rev.*, 37, 143-229.
- HABERER, M. (1990). Farbatlas Zierpflanzen. Stuttgart: Ulmer.
- HACHMANN. (1994). Rhododendren-Neuzüchtungen, Zwerggehölze und Raritäten [Online]. Available: [http://www.hachmann.de/bh\\_sortiment/fs\\_sorti\\_rhodohybrid.htm](http://www.hachmann.de/bh_sortiment/fs_sorti_rhodohybrid.htm)
- HAGEMANN, R. (1960). Das Vorkommen von Mischzellen bei einer Gatterslebener Herkunft des Status albomaculatus von *Antirrhinum majus* L. *Die Kulturpflanze*, 8, 168-184.
- HAGEMANN, R. und SCHOLZE, M. (1974). Struktur und Funktion der generischen Information in den Plastiden: VII. Vererbung und Entmischung genetisch unterschiedlicher Plastidensorten bei *Pelargonium zonale* AIT. *Bio. Zbl.*, 93, 625-648.
- HALBAUER, R. (1994). Methodische Untersuchungen für die quantitative Analyse von Mischzellen bei einem variegaten Klon von *Crassula lactea* als Voraussetzung für eine spätere Protoplastenfusion. Unveröff. Diplomarbeit, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Pflanzenzüchtung.
- HEJNOWICS, Z. (1956). The first periclinal chimera among Gymnosperms. *Acta Soc. Bot. Polon*, 25, 181-202.

- HEJNOWICS, Z. (1959). Eversporting periclinal chimeras. *Recent Advantages in Botany*, 2, 1446-1448.
- HENNY, R.J. (1986). Single locus, multiallelic inheritance of foliar variegation in *Aglaonema*. *J. Hered.*, 77, 214-215.
- IMAI, Y. (1934). On the mutable genes of pharbitis, with special reference to their bearing on the mechanism of bud-mutation. *Journ. of Coll. Agric. Imp. Univ. Tokyo*, 12, 479-523.
- IMAI, Y. (1935). Variegated flowers and their derivatives by bud variation. *Journ. Genet.*, 90, 295-319.
- JØRGENSEN, C.A. und CRANE, M.B. (1927). Formation and morphology of *Solanum* chimeras. *J. Genet.*, 18, 247-273.
- KIRK, J.T.O und TILNEY-BASSETT, R. E. A. (1978). The Plastids: Their Chemistry, structure, growth and inheritance. London: W.H. Freeman and Co.
- KRIKORIAN, A.D. (1991). Estabilidad genotípica en células, tejidos y plantas derivadas de cultivos in vitro. In William Roca und Luis Mroginski (Eds.), *Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y Aplicaciones* (pp. 313-338). Colombia: CIAT.
- KÜSTER, E. (1919). Über weißrandige Blätter und andere Formen der Buntblättrigkeit. *Biol. Zbl.*, 39, 212-251.
- KÜSTER, E. (1927). Anatomie des panaschierten Blattes. In: K. Linsbauer (Eds.), *Handbuch der Pflanzenanatomie*. Berlin, Verlag Gebrüder Borntraeger.
- KÜSTER, E. (1937). Beiträge zur Kenntnis der panaschierten Gehölze. *Mitteil. D. D. dendrol. Ges.*, 49, 70-79.
- LANE, W. D. (1979). In vitro propagation of *Spiraea bumalda* and *Prunus cistena* from shoot apices. *Can. J. Plant Sci.*, 59, 1025-1029.
- LARKIN, P.J. und SCOWCROFT, W.R. (1981). Somaclonal variation - a novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.*, 60, 197-214.
- LAX, A. R., VAUGHN, K. C., DUKE, S.O. und ENDRIZZI, J. E. (1987). Structural and physiological studies of a plastome cotton mutant with slow sorting out. *The Journal of Heredity*, 78, 147-152.
- LINNERT, G. und ODENBACH, W. (1997). Genomkartierung mit molekularen Markern. In Odenbach Werner (Hrsg.), *Biologische Grundlagen der Pflanzenzüchtung*. (S. 250-324). Berlin: Parey Buchverlag.
- MARCOTRIGIANO, M. und GOUIN, F.R. (1984). Experimentally synthesized plant chimeras 2.: A comparison of in vitro and in vivo techniques for the production of interspecific *Nicotiana* chimeras. *Ann. Bot.*, 54, 513-521.
- MARCOTRIGIANO, M. (1997). Chimeras and Variegation: Patterns of Deceit. *HortScience*, 32 (5), 773-784.

- MICHAELIS, P. (1958). Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. *Planta*, 51, 600-634.
- MICHAELIS, P. (1961). Genetische, entwicklungsgeschichtliche und zytologische Untersuchungen zur Plasmavererbung: I. Über zufallgemäße und einseitige Verteilung plasmatischer Erbträger während der Zellteilungen, zugleich ein Beitrag zur Analyse intraindividuellder Scheckungsmuster. *Flora*, 151, 162-201.
- MICHAELIS, P. (1966). Plasmatische Vererbung beim Weidenröschen (*Epilobium*)-Methoden und Ergebnisse der Plasmoanalyse. *Umschau in Wissenschaft und Technik*, 19, 629-635.
- MOSER, E. (1991). Rhododendren: Wildarten und Hybriden. Deutschland: Neuman Verlag.
- MURASHIGE, T. und SKOOG, F. (1962). A revised medium for rapid plant growth and bioassays with tobacco tissues cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473-497.
- NAPP-ZINN, K. (1973). Anatomy des Blattes: 2. Blattanatomie der Angiospermen. In Zimmermann, W. (Hrsg.), Handbuch der Pflanzenanatomie. Bd. 8, Teil 2A, Berlin, Gebrüder Borntraeger Verlag.
- NEWMAN, I. V. (1965). Pattern in the meristems of vascular plants: III. Pursuing the patterns in the apical meristem where no cell is a permanent cell. *J. Lynn. Soc. (Bot.)*, 59: 185-214.
- NOACK, K. L. (1932). Über *Hypericum*- Kreuzungen: II. Rassen- und Artkreuzungen mit einem buntblättrigen *Hypericum acutum*. *Z. Vererbungs.*, 63, 232-255.
- NORTON, M. E. und BOE, A. A. (1982). In vitro Propagation of Ornamental Rosaceous Plants. *HortScience*, 17, 190-191.
- NORTON, M.E. und NORTON, C. R. (1986a). Explant origin as a determinant of in vitro shoot proliferation in *Prunus* and *Spiraea*. *Journal of Horticultural Science*, 61, 43-48.
- NORTON, M.E. und NORTON, C. R. (1986b). Change in shoot proliferation with repeated in vitro subculture of woody species of *Rosaceae*. *Plant cell Tiss. Organ Cult.*, 5, 187-197.
- OLBRICHT, K. (1994). Nachweis der chimärischen Konstitution einer transgenen *Petunia hybrida* Hort. Unveröff. Diplomarbeit, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Pflanzenzüchtung.
- OLBRICHT, K. und POHLHEIM, F. (1996). Kalluskultur als Methode, den chimärischen Charakter einer transgenen Petunie zu beweisen. In Tagungsprogramm der Botanikertagung in Düsseldorf 1996 (S. 272). Düsseldorf.
- OLBRICHT, K. (1998). Untersuchungen zur genetischen und histogenetischen Variabilität an transgenen *Petunia hybrida* HORT. (VILM.). Dissertation, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Pflanzenzüchtung, Diss., 1998-07-06 [On-line]. Available: <http://dochost.rz.hu-berlin.de/dissertationen/agrar/olbricht-klaus/>
- PFITZER, E. (1872). Beiträge zur Kenntnis der Hautgewebe der Pflanzen: III. Über die mehrschichtige Epidermis und das Hypoderm. *Jahrb. Wiss. Bot.*, 8, 16-74.



- PLASCHIL, S. (1997). Vergleichende Untersuchungen zur histogenetisch bedingten Sternmusterbildung in der Petalenfärbung bei *Camellia* L., *Myosotis* L., *Pelargonium* L'Herit. ex Ait., *Phlox* L., *Rhododendron* L., *Saintpaulia* H. WENDL., *Verbena* L. Dissertation, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Pflanzenzüchtung, Diss., 1997-06-05 [On-line]. Available: <http://dochostrz.hu-berlin.de/dissertationen/agrar/plaschil-sylvia/>
- POHLHEIM, F. (1971). *Spiraea bumalda* 'Anthony Waterer' und *Mentha arvensis* 'Variegata'- zwei immerspaltende Periklinalchimären unter den Angiospermen. *Bio. Zbl.*, 90, 295-316.
- POHLHEIM, F und BEGER, B. (1974). Erhöhung der Mutationsrate im Plaston bei *Saintpaulia* durch N-Nitroso-N-Methylharnstoff. *Biol. Rdsch.*, 12, 204-206.
- POHLHEIM, F und KAUFHOLD, M. (1985). On the formation of variegation pattern in *Filipendula ulmaria* 'Aureo-Variegata' through changes in plane of cell division in the epidermis of young leaves. *Flora*, 177, 167-174.
- POHLHEIM, F und PLASCHIL, S. (1993). Induktion und Analyse von somatischer Variabilität in der Sortengruppe 'Ville de Paris' bei *Pelargonium peltatum*. *BDGL-Schriftenreihe*, 11, (S. 105). Bonn.
- POHLHEIM, E. und POHLHEIM, F. (1974). Über ein Vergilbungsmuster der Blätter von *Crataegomespilus dardari* und einer Sproßvariante von *Pelargonium zonale* 'Kleiner Liebling'. *Wiss. Z. Päd. Hs. Potsdam*, 18 (1), 47-55.
- POHLHEIM, F. (1973). Untersuchungen zur periklinalchimärischen Konstitution von *Pelargonium zonale* 'Freak of Nature'. *Flora*. 162, 284-294
- POHLHEIM, F. 1980. Periklinalchimärische Anthozyanmuster bei *Saintpaulia ionantha* H. WENDL. nach NMH-Behandlung. *Arch. Züchtungsforsch.*, 10 (4), 261-269.
- POHLHEIM, F. (1981a). Induced Mutations for Investigations of Histogenetic Processes as the Basis for Optimal Mutant Selection. In IAEA (Hrsg.), *Induced Mutations a Tool in Plant Research* (pp.489-495). Vienna.
- POHLHEIM, F. (1981b). Genetischer Nachweis einer NMH-induzierten Plastommutation bei *Saintpaulia ionantha* H. WENDL. *Biol. Rdsch.* 19, 47-50.
- POHLHEIM, F. (1983). Vergleichende Untersuchungen zur Änderung der Richtung von Zellteilungen in Blattepidermen. *Biol. Zbl.* 102 (3), 323-336.
- POHLHEIM, F. (1984). Vergleichende Untersuchungen über Parallelvariationen durch Mutation und Chimärenunlagerung bei *Hedera helix*- ein Beitrag zur Entstehung von Grünrand-Periklinalchimären mit unmaskiertem, weißem Binnenfeld. *Arch. Züchtungsforsch.*, 15 (2), 115-126.
- POHLHEIM, F. und RASHID, J. (1994). Nachweis von vier selbständigen Sprossscheitelschichten bei *Schefflera* - Konsequenzen für die Sproßvariation. *Vort. Pflanzenzüchtung*, 28, 345-347.
- POHLHEIM, F. und RÖSSEL, K. (1989). Partnerinduktion bei chimärischen Blatt- und Blütenfarbmustern von *Pelargonium*. *Tag. Ber. Akad. Landwirtsch. DDR*, 218, (S. 107-115). Berlin.

- PRAY, T. R. (1957). Marginal growth of leaves in monocotyledons: *Hosta*, *Maranta* and *Philodendron*. *Phytomorphology*, 7, 381-387.
- RASHID, J. (1993). Untersuchung zur Musteranalyse variegater Formen der Gattungen *Herdera*, *Schefflera* und *Polyscias*. Unveröff. Dissertation, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Pflanzenzüchtung.
- RENNER, O. (1936). Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. *Flora*, 130, 218-290.
- RISCHKOW, V. L. (1936). Buntblättrige Chimären und der Ursprung des Mesophylls bei Dicotyledonen. *Genetica*, 18, 313-336.
- ROMBERGER, J. A., HEJNOWICZ, Z. und HILL, J. F. (1993). Plant Structure: Function and Development. Berlin: Springer Verlag.
- RÖSSEL, K. (1990). Genetische Markierungen zur quantitativen Musteranalyse an somatischen Varianten eines monohaploiden *Pelargonium*-Klones. Unveröff. Dissertation, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Pflanzenzüchtung.
- SATINA, S. und BLAKESLEE, A. F. (1940). Periclinal Chimeras in *Datura stramonium* in relation to development of leaf and flower. *Amer. J. Bot.*, 28, 862-871.
- SCHEEL, H. (1965a). Untersuchungen über die Variegation bei *Barbarea vulgaris* R. BR. Var. *Variegata* hort. *Z. Pflanzenzüchtung*, 54, 225-242.
- SCHEEL, H. (1965b). Untersuchungen über einen weißbunten Klon von *Armoracia lapathifolia* Gilib. *Der Züchter*, 36 (3), 135-139.
- SCHEEL, H. (1969). Über Weißbuntheit bei *Pulmonaria officinalis* L. und *Plantago lanceolata* L. *Zeitschr. Der Päd. HS Potsdam*, 13, 113-119.
- SCHMIDT, A. (1924). Histologische Studien an phanerogamen Vegetationspunkten. *Bot. Arch.*, 8, 345-404.
- SCHNEIDER, U. (1996). Quantitative Untersuchungen zur Gewebekonkurrenz auf verschiedenen Differenzierungsebenen. Unveröff. Diplomarbeit, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG Pflanzenzüchtung.
- SCHÖTZ, F. (1958). Beobachtungen bei *Onoethera* und Beiträge zum Problem der Plastidenvererbung. *Planta*, 51, 173-185.
- SCHÖTZ, F.; SENDER, F. und BATHELT, H. (1966). Untersuchungen über die Plastidenentwicklung und Pigmentausrüstung der Oenotheren: 2. Mutierte biennis-Plastiden. *Planta*, 70, 125-154.
- SCHUBERT R. und WAGNER G. (1991). Botanisches Wörterbuch. Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
- SENGBUSCH, P. V. (1989). Botanik. Hamburg: Mc Graw-Hill.
- STEEVES, T. A. und SUSSEX, I. (1989). Patterns in Plant development. New York: Cambridge University Press.
- STEWART, R. N. und DERMEN, H. (1970). Determination of number and mitotic activity of shoot apical initial cells by analysis of mericlinal chimeras. *Amer. J. Bot.*, 57, 816-826.

- STEWART, R. N. und DERMEN, H. (1979). Ontology in monocotyledons as revealed by studies of the developmental anatomy of periclinal chloroplast chimeras. *Amer. J. Bot.*, 66, 47-58.
- STUBBE, W. (1958). Dreifarbenpanaschierung bei *Oenothera* II. *Z. Vererbungslehre*, 89, 189-203.
- SZYMKOWIAK, E.J. und SUSSEX, I.A. (1996). What chimeras can tell us about plant development. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mo. Biol.*, 47, 377-403.
- TABARES, E.; PACHON, J. und ROCA, W.M. (1991). Variación Somaclonal y su aplicación al mejoramiento de cultivos. In William Roca und Luis Mroginski (Eds.), *Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y Aplicaciones* (pp. 339-359). Colombia: CIAT.
- TIAN, H. C. und MARCOTRIGIANO, M. (1993). Origin and development of adventitious shoot meristems initiated on plant chimeras. *Developmental Biology*, 155, 259-269.
- TIEDEMANN, R. (1989). Graft union development and symplastic phloem contact in the heterograft *Cucumis sativus* on *Cucurbita ficifolia*. *J. Plant Physiol.*, 134, 427-440.
- TILNEY-BASSETT, RAE. (1963). The structure of periclinal Chimeras. *Heredity*, 18, 256-285.
- TILNEY-BASSETT, RAE. (1984). The genetic evidence for nuclear control of chloroplast biogenesis in higher plants. In: *Chloroplast biogenesis*. Cambridge University Press, Cambridge.
- TILNEY-BASSETT, RAE. (1986). *Plant chimeras*. London: Edward Arnold.
- TILNEY-BASSETT, RAE. und ALMOUSLEM A.B. (1989). Variation in plastid inheritance between *Pelargonium* cultivars and their hybrids. *Heredity*, 63, 145-153.
- TILNEY-BASSETT, RAE. (1991). Genetics of Variegation and Maternal Inheritance in Ornamentals. In J. Harding, F. Singh und J.N.M. Mol (Eds.), *Genetics and Breeding of Ornamental Species* (pp.226-245). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- WEGNER, J. (1995). Vergleichende Untersuchungen zur L1-Beteiligung an der Blattmesophyllbildung bei *Primula vulgaris* HUDS. und *Alstroemeria* spec. Unveröff. Diplomarbeit, Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Gartenbauwissenschaften, FG. Pflanzenzüchtung.
- WEGNER, J. (1998). Untersuchungen zur Schichtenstruktur des angiospermen Sproßscheitels und zur Entstehung von Variegationsmustern bei besonderer Berücksichtigung des Histogeneseverlaufs L1-bürtiger Gewebe im Laubblatt. Marburg: Tectum Verlag.
- WINKLER, H. (1907). Über Pfropfbastarde und pflanzliche Chimären. *Ber. Deut. Bot. Ges. Geb.*, 25 (10), 568-576.
- WINKLER, H. (1935). Chimären und Burdonen: Die Lösung des Pfropfbastardproblems. *Der Biologe*, 4, 279-290.
- XIAOHAN, Y.; BO, J.; YAN, Z.; XUETEI T. (1995). Enhancement of direct shoot regeneration from internode segments of *Chrysanthemum* by silver nitrate. *Acta Horticulturae*, 404, 68-73.

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. F. Pohlheim, Leiter des Fachgebietes Pflanzenzüchtung der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät, möchte ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit danken.

Mein allerherzlichster Dank gilt Frau Dr. S. Plaschil und Herrn Dr. K. Olbricht für ihre stets hilfsbereite Unterstützung, fachlichen Anregungen und Diskussionen.

Mein grenzenloser Dank gilt meiner Frau Ana Moreno, meinen Eltern und meinen Brüdern Erik und Francisco.

Sehr dankbar für ihre Unterstützung bin ich Frau Baumert, Frau Rentsch, Frau Meier, Frau Seyfert und Frau Binting.

In gleicher Weise danke ich allen Freunden und Kollegen hier in Deutschland für ihre moralische Unterstützung.

An dieser Stelle möchte ich besonders dem *Deutschen Akademischen Austauschdienst* danken, der die Anfertigung dieser Arbeit durch seine materielle und ideelle Förderung ermöglicht hat.

## **Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und unter Verwendung der angegebenen Methoden und Hilfsmittel angefertigt habe.

Berlin, Juni 2001